

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

TESIS

CARACTERIZACION TOXICA DE ALGUNOS
EFLUENTES INDUSTRIALES MEDIANTE BIO-
ENSAYOS ESTATICOS CON RENOVACION.

ERIC D. GUTIERREZ LOPEZ



FACULTAD DE CIENCIAS

1983

NOVIEMBRE



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.

INDICE

	Págs.
PREFACIO	v
AGRADECIMIENTOS	vii
1. INTRODUCCION	1
1.1. Objetivos	2
2. ANTECEDENTES	3
3. MATERIAL Y METODOS	8
3.1. Desechos industriales	8
3.1.1. Muestreo y almacenamiento	
3.1.2. Análisis fisicoquímicos	
3.2. Especie experimental	10
3.2.1. Obtención y transporte	
3.2.2. Aclimatación	
3.3. Agua de dilución	12
3.4. Bioensayos exploratorios y formales	13
3.5. Análisis de resultados	17
4. RESULTADOS Y DISCUSION	20
4.1. Bioensayo para la Refinería de Azcapotzalco	23
4.2. Bioensayo para FERTIMEX	33
4.3. Bioensayo para la Papelera Loreto y Peña Pobre	42
4.4. Sensibilidad de la especie de prueba	46
4.5. Derivación de una concentración segura	48
5. CONCLUSIONES	52
APENDICE Método abreviado de Litchfield-Wilcoxon para la determinación del CL_{50}	54
BIBLIOGRAFIA	60

1. INTRODUCCION

El crecimiento industrial acelerado y sin planificación alguna, aunado al crecimiento demográfico, ha provocado transformaciones ambientales en diversos grados que se han reflejado en cambios de la calidad del agua y otros recursos, repercutiendo en forma negativa en los niveles de vida de los habitantes (Hernández, 1978).

En la actualidad en México, no se cuenta con la información referente a las principales fuentes de contaminación industrial, en el sentido de la interacción entre las sustancias de desecho que se producen y los organismos que viven en los cuerpos receptores. El conocimiento de estas complejas interacciones, permitirán predecir la influencia que el hombre ejerce sobre el ambiente, cuyos efectos, pueden acumularse hasta el punto de que éstas no sólo se sumen, sino que se multipliquen.

De lo anterior se desprende, que existe la necesidad impostergable de evaluar el carácter tóxico de los desechos producidos por las principales industrias, mediante procedimientos adecuados, con el fin de reunir el conocimiento suficiente para encauzar las medidas tendientes a la solución del problema de la contaminación del agua provocado por esta actividad.

La evaluación conjunta de los parámetros fisicoquímicos y biológicos, brinda información que permite el entendimiento integral del problema en cuestión. Sin embargo, dada la complejidad química que presentan los desechos industriales, la alteración de la calidad del agua puede ser muchas veces mejor comprendida mediante los parámetros biológicos, ya que los organismos nos reflejan las condiciones en las que pueden sobrevivir, siendo este hecho más revelador de su entorno que un análisis químico por separado.

Uno de los procedimientos biológicos que han adquirido mayor trascendencia en los últimos 25 años son los denominados bioensayos, los cuales constituyen una herramienta para la valoración tóxica de los desechos industriales (American Public Health Association A.P.H.A., 1976).

En los últimos tiempos, se ha incrementado el uso de estas técnicas de medición de los efectos de la contaminación del agua, teniendo considerable avance en el manejo de los peces como organismos experimentales. Aunado a lo anterior, se han desarrollado técnicas estándares que en muchas ocasiones han sido adoptadas a nivel internacional, las cuales cumplen con los objetivos iniciales de esta metodología, que son la determinación de los efectos letales en períodos cortos de exposición, tendiendo posteriormente a la última finalidad de su aplicación en los programas de control de las fuentes de degradación del agua, como son las concentraciones seguras o límites permisibles de descarga para los cuerpos receptores (Alabaster y Lloyd, 1980).

La evaluación tóxica de una sustancia mediante bioensayos de períodos cortos (0-96 hrs.) utilizando peces, puede ser un procedimiento accesible a nuestras condiciones, con la factibilidad de constituir un mecanismo eficiente en la detección, control y vigilancia de nuestras principales fuentes de contaminación del agua, como son los desechos industriales. Además existe la posibilidad de generar límites permisibles para dichas descargas, basados tanto en la información obtenida en su ejecución, así como en la existente en investigaciones internacionales.

1.1. Objetivos.

Aplicar bioensayos estáticos con renovación cada 24 hrs., utilizando a Cyprinus carpio (Linnaeus, 1758), para la evaluación tóxica de los desechos industriales producidos por: una Refinería (Azcapotzalco), una química (FERTIMEX) y una papelera (Loreto y Peña Pobre).

Determinar las características fisicoquímicas de los desechos a probar y su comportamiento durante un período de 96 hrs.

Establecer la sensibilidad de la especie de prueba para los diferentes efluentes.

Con base en la información generada, evaluar tentativamente los niveles o límites permisibles de descarga.

2. ANTECEDENTES

Panorama general de la contaminación industrial en México.

En nuestro país la creciente contaminación de las aguas interiores, se perfila como una amenaza de grandes proporciones, ya que al degradarse su calidad se limitan considerablemente sus usos y surgen peligros, tanto para la flora y la fauna acuáticas, como para el hombre mismo (Viscaíno, 1980). La gran cantidad de agua utilizada por la industria, ha sido calculada en 5,400 millones de m³ para 1980 - (Secretaría de Recursos Hidráulicos, 1973), la cual es transformada en volúmenes considerables de agua residual de calidad deplorable, ya que en la mayoría de los casos no existe tratamiento alguno y por lo tanto su posibilidad de reuso es mínima, característica con la cual es descargada a nuestras aguas, ocasionando que en más de 200 cuencas hidráulicas de nuestro país, se consigne el dato de que en mayor o menor grado, éstas se encuentren afectadas. Los casos más críticos son las cuencas de los ríos Pánuco, Lerma-Santiago, Balsas, Blanco, Guaya lejo, San Juan, Culiacán, Fuerte, Coahuayana, Nazas y Conchos entre otros. (S.R.H., 1976).

La industria petrolera, azucarera, textil, alimenticia, de la curtiduría, vitivinícola, del hierro y del acero, de la celulosa y papel y la química, se señalan como algunas de las principales fuentes de contaminación del agua en México, debido a la importante demanda de agua de primer uso que requieren, así como el volumen y características de las aguas residuales que descargan (Cifuentes, et. al., 1970)

Es así que considerando los usos presentes y futuros del agua, así como los volúmenes de descarga que genera la actividad industrial se desprende la necesidad de evaluar el impacto que las aguas de desecho producirá a los cuerpos receptores.

Aspectos básicos de los bioensayos.

Los principios metodológicos de los ensayos biológicos con organismos acuáticos, están basados en el marco teórico presentado por la

toxicología tradicional y empezaron a desarrollarse a partir de la década de los 40's. Hart, et. al., (1945), Doudoroff, et. al., -- (1951), Cairns (1957), Henderson (1957), Sprague (1969, 1970, 1973) y otros, han abogado y demostrado la utilidad de la exposición experimental de los organismos (principalmente peces) a los desechos industriales para predecir el deterioro de la calidad del agua, antes de que ésto ocurra.

Los bioensayos son pruebas que se realizan con organismos en condiciones experimentales controladas, con el objeto de detectar o medir los efectos de una o más sustancias potencialmente tóxicas, solas o en combinación, determinándose así el nivel o cantidad máxima que pueden soportar los mismos en un tiempo determinado (A.P.H.A., 1976).

Dichas pruebas son diseñadas para determinar la concentración de un desecho la cual es capaz de afectar al 50% de la población expuesta. Este valor, es denominado concentración letal media CL_{50} cuando se toma como criterio de respuesta a la mortandad, y se obtiene como consecuencia de la exposición de una proporción específica de organismos a cada nivel de concentración dentro de períodos definidos (United States Environmental Protection Agency (U.S.E.P.A.), 1974). Esta magnitud de respuesta, es considerada crítica y se toma como criterio fundamental de toxicidad, ya que representa un punto de referencia conveniente para expresar la toxicidad de una sustancia dada, para el organismo típicamente representativo de la población expuesta (Buikema et. al., 1982; U.S. S.E.P.A. op. cit., Sprague, 1973). Por lo tanto, el encontrar un CL_{50} de una sustancia para una o varias poblaciones, es un criterio formal que permite predecir daño o deterioro a la misma y al cuerpo receptor.

La información obtenida mediante el uso de los bioensayos ha servido entre otras cosas para (A.P.H.A., 1976; Buikema op. cit.; Doudoroff op. cit., 1951; U.S.E.P.A. op. cit.):

- Determinar los mínimos requerimientos ambientales en los que los organismos subsisten, tales como oxígeno disuelto, pH, temperatura, etc.

- Evaluar la toxicidad de los desechos industriales y de otro tipo a corto y a largo plazo, incluyendo con ésto el comportamiento - de diferentes compuestos dentro y fuera de los organismos, así como la sensibilidad de ellos a los mismos.
- Precisar hasta que grado de tratamiento debe ser sometido un de secho, dilucidar la efectividad de los diferentes métodos que existen, además de prescribir límites permisibles de descarga y concentraciones seguras de componentes específicos.

El mejor logro de cualesquiera de estas metas, está relaciona do a las respuesta generadas por los entes biológicos, las cuales están en función del tiempo de exposición y pueden ser agudas (0 - 96 hrs) o crónicas (mayores tiempos de exposición) (Sprague, 1969).

Según Buikema op. cit., la evaluación de la toxicidad de un - desecho, sigue básicamente 4 tipos de diseños conocidos como:

- Bioensayos estáticos, donde los organismos son expuestos a un - mismo medio durante toda la prueba.
- Bioensayos estáticos con renovación, donde la solución de prue ba es cambiada por lo menos cada 24 horas.
- Bioensayos de flujo continuo, donde la solución de prueba es re novada continuamente.
- Bioensayos "in situ", los cuales se realizan en el lugar mismo donde se encuentran los organismos y el sitio de descarga.

La selección de algún procedimiento en particular, depende de las necesidades de la investigación y de los recursos económicos y técnicos disponibles (Betts et. al., 1976). Sin embargo, la utili zación de uno u otro sistema, sigue lineamientos básicos, los cua- les permiten la validez de estas pruebas y por ende la comparación de resultados. Dentro de los requisitos establecidos por las meto dologías estándares más importantes para pruebas de toxicidad y que fueron considerados en la realización del presente estudio, fi guran (A.P.H.A., 1976; Doudoroff, op. cit., European Inland Fisheries Advisory Commission (E.I.F.A.C.), 1975; Peltier, 1978; Sprague, 1973; U.S.E.P.A., op. cit.):

- 1) Una fuente de agua no contaminada y de aceptable calidad.

- 2) Un sistema experimental adecuado construído de materiales no tóxicos.
- 3) Una fuente adecuada de organismos experimentales.
- 4) Un período de aclimatación de los organismos de prueba a las condiciones de laboratorio.
- 5) Unas pruebas exploratorias y formales con los requerimientos indispensables (selección adecuada de las concentraciones de prueba, número de organismos por tratamiento, volumen de solución de prueba, etc.), que permitan obtener en caso de que existan, las respuestas necesarias para la determinación de las concentraciones letales medias de los desechos a probar.

En relación a la selección del organismo experimental, se han planteado varios criterios, dentro de los cuales se mencionan: su disponibilidad de una misma fuente y en todas las épocas del año, importancia recreacional y económica, sensibilidad y fácil manejo en el laboratorio considerando su adaptabilidad, propensión a enfermedades, etc. (A.P.H.A., 1976; Peltier, op. cit.; Sprague, 1973 U.S.E.P.A., op. cit.). Estos criterios son deseables, pero en la mayoría de los casos muy pocos organismos cumplen con estos requisitos, ya que podrían satisfacer algunos y presentar serias deficiencias en otros (Buikema op. cit.).

Las pruebas de toxicidad aguda, han sido realizadas en diferentes grupos de organismos tales como algas, invertebrados, plantas superiores y vertebrados. Los peces son los organismos en los cuales se tiene mayor experiencia ya que han sido ampliamente usados, siendo sugeridos aquéllos que pertenecen a las familias - (se señalan solamente las que se encuentran en México): Clupeidae (Dorosoma sp.), Salmonidae (Salmo gairdnerii), Cyprinidae (Cyprinus carpio), Ictaluridae (Ictalurus melas), Poecilliidae (Poecillia reticulata), Centrarchidae (Lepomis macrochirus) (A.P.H.A., 1980).

Investigaciones en México.

Los trabajos de este tipo, realizados en México son escasos. Brizuela (1971), evaluó mediante bioensayos la toxicidad de subs-

tancias puras relacionadas con desechos industriales, tales como ácido sulfúrico, cromo como dicromato de potasio y lauril sulfonato de cobre en grado reactivo, utilizando a Astyanax fasciatus, - Xiphophorus helleri, Lebistes reticulatus, Carassius auratus, --- Cyprinus carpio y Lepomis macrochirus. De la misma forma S.R.H. (1972), utilizó a Astyanax fasciatus, Xiphophorus sp. y Lebistes reticulatus para evaluar la toxicidad del alquil bencen sulfonato de sodio, cromo trivalente, así como la descarga de la industria - Proquina con la cual no se encontró mortandad.

López (1975), utilizando a Tilapia melanopleura, Cyprinus carpio y Micropterus salmoides, evaluó las descargas de un ingenio a zucarero, de una tenería y los desechos municipales del estado de Morelos. Determinó efectos tóxicos en las descargas industriales y no encontró mortandades en las aguas residuales domésticas. Mañaña (1981), realizó bioensayos con una fábrica de celulosa y papel, una tenería, una fábrica de productos químicos y dos ingenios azucareros en la cuenca del río Blanco, Ver. Se encontraron mortandades con el primer desecho, utilizando a Cichlasoma gadovii y a Sarotherodon mossambicus.

Cabe mencionar que en todos estos trabajos, utilizaron a los bioensayos estáticos como sistema experimental, los cuales han sido considerados como modestos en la evaluación tóxica de los desechos industriales (Buikema, op. cit.; Peltier, op. cit.; U.S.E.P.A., op. cit.):

3. MATERIAL Y METODOS

3.1. Desechos industriales.

3.1.1. Muestreo y almacenamiento.

El muestreo de los desechos, fue llevado a cabo conforme a lo establecido por Peltier (1978), para pruebas estáticas.

El punto de muestreo seleccionado, fue para todos los casos, - un poco después de la salida del efluente de la planta respectiva. Se tomaron volúmenes iguales de desecho, colectados cada 30 minutos con el objeto de formar una muestra compuesta de aproximadamente - 350 l. al mezclarse en el laboratorio. El período de muestreo fue en total de 4 hrs. Esto tuvo como finalidad el de evaluar una muestra del efluente lo más representativa de la descarga, en condiciones normales de operación.

Los volúmenes de desecho, fueron obtenidos 24 hrs. antes del inicio de los bioensayos. El desecho fue transportado y posteriormente almacenado en un cuarto frío a una temperatura de 4°C., evitando una agitación violenta. En el sitio de muestreo, se determinó oxígeno disuelto y temperatura. El material de colecta incluyó, garrafrones de plástico de 20 y 40 l., guantes, botellas especiales de 300 ml. para oxígeno disuelto y termómetro.

3.1.2. Análisis fisicoquímicos.

En el laboratorio, el mismo día del muestreo, se colocaron dos acuarios de vidrio con capacidad de 37.5 l., en los cuales, fue introducido un volumen de 25 l. en cada uno, de la muestra compuesta del desecho a temperatura ambiente. En uno de los acuarios, fue montado un sistema de aereación. El flujo de aire, se reguló mediante llaves de plástico.

De estos dos sistemas, se extrajeron muestras al inicio, a las 24 y 96 hrs. de su colocación, esto fue hecho para:

- Determinar las características fisicoquímicas del 100% del dese-

cho.

- Determinar el comportamiento químico del mismo, en un sistema aerado y en otro sin aerar, cuantificando su composición en un período de 0 a 96 hrs.

Los parámetros fisicoquímicos determinados y las técnicas utilizadas, se enlistan a continuación:

Parámetro	Método de análisis
Dureza total, CaCO ₃ -----	Volumétrico por titulación con EDTA
Alcalinidad total, CaCO ₃ -----	Volumétrico por neutralización con H ₂ SO ₄
Conductividad -----	Conductímetro
pH -----	Potenciométrico
Oxígeno disuelto -----	Iodométrico o de Winkler
DBO ₅ -----	Modificado de Winkler
DQO -----	Dicromato de potasio
Grasas y aceites -----	Soxhlet
Sulfatos -----	Turbidimétrico
Fosfato total -----	Cloruro estanoso
N-(total) -----	Kjeldahl
N-(NO ₃) -----	Kjeldahl
N-(NO ₂) -----	Kjeldahl
N-(NH ₃) -----	Kjeldahl
N-(orgánico) -----	Kjeldahl
Sólidos -----	Gravimétrico
Detergentes (SAAM) -----	Cloruro de metilo
Fenoles -----	4 amino-antipirina
Fluoruros -----	Spands
Arsénico -----	Dietilditiocarbamato de plata
Cianuro -----	Colorimétrico con cloramina T
Cromo, Cr ⁺⁶ -----	Colorimétrico con difenilcarbáida
Mercurio -----	Espectrofotométrico
Plomo -----	Espectrofotométrico
Fierro -----	Espectrofotométrico
Níquel -----	Espectrofotométrico
Cobre -----	Espectrofotométrico
Zinc -----	Espectrofotométrico

Estos análisis, fueron llevados a cabo en el laboratorio Central de la Red Nacional de Laboratorios de la S.A.R.H.

3.2. Especie experimental.

La especie seleccionada en este estudio, fue Cyprinus carpio, la cual fue introducida en nuestro país a fines del siglo pasado - (Secretaría de Pesca, 1982).

Los criterios de selección fueron dados por:

- 1) Su amplia distribución, producción y consumo en nuestro país (en 1982 se produjeron 12,119 toneladas, se sembraron 2,305,000 de crías en cerca de 1,700 embalses susceptibles de actividad pesquera, Monterrubio, E. J., El Sol de México. 17 de Nov. de 1982).
- 2) Su alto nivel nutricional, proteína asimilable, biotecnología de cultivo desarrollada, fácil obtención y manejo, gran adaptabilidad a diversas condiciones ambientales, fácil aclimatación, aceptabilidad de alimento artificial y crecimiento eficiente bajo condiciones controladas (Secretaría de Pesca, op. cit.).

Características morfológicas de la especie en estudio.

Cyprinus carpio presenta aleta dorsal larga, de III-IV espinas y de 17 a 22 radios blandos; de 35 a 39 escamas en la línea lateral; dientes faríngeos: I.I.3-3.I.I. Boca terminal, rodeada por labios carnosos y con dos pares de barbas en el labio superior. La región dorsal del cuerpo, con coloración de verde olivo a verde amarillento, los flancos verdosos; la región ventral, generalmente de blanco a amarillenta; aletas opacas verde grisáceo o cafésoso en ocasiones rojizas (Sarig, 1966; Secretaría de Pesca, op. cit.).

Aspectos metabólicos.

Los ciprínidos, son organismos muy resistentes a condiciones ambientales desfavorables, como son, las bajas o altas temperaturas, bajos niveles de oxígeno y poca cantidad de alimento. Se desarro-

llan en aguas templadas entre 19 y 26°C, pudiendo vivir en aguas - frías o tropicales; son propios de medios lénticos o lóticos, asimismo, se adaptan a las aguas turbias o transparentes con un pH ligeramente alcalino de 7.6 como óptimo y de 5 a 9 en los extremos. Son de hábitos alimenticios omnívoros y generalmente se encuentran en el fondo. La carpa, se reproduce una sola vez al año en forma natural (febrero y mayo), pudiéndose obtener desoves en cualquier época del año en forma inducida, por medio de inyección de hormonas (hipófisis de peces y hormonas artificiales de Prolán E) (Secretaría de Pesca, op. cit.).

3.2.1. Obtención y transporte.

La especie de prueba, se obtuvo de la Piscifactoría de Tezontepec de Aldama, Hgo., perteneciente a la Secretaría de Pesca. En la Piscifactoría, los peces fueron capturados de los estanques, por medio de redes, seleccionando un lote homogéneo de aproximadamente 500 individuos, preferiblemente menores de 8 cm. de longitud total ó 5 g. de peso, según el criterio mencionado por Sprague, - 1973. Se introdujeron en bolsas de plástico, las cuales contenían agua del mismo estanque. Se inyectó oxígeno puro hasta que la bolsa quedó completamente llena de gas, se amarraron con ligas de cámara de llanta y posteriormente se trasladaron cuidadosamente al laboratorio, en aproximadamente hora y media. Los diferentes lotes de peces utilizados, se obtuvieron previamente a cada prueba.

3.2.2. Aclimatación.

La aclimatación de los organismos de prueba a las condiciones de laboratorio, se llevó a cabo en 3 acuarios; 2 de 180 l. y otro de 225 l. de capacidad, éstos fueron previamente esterilizados con una solución de cloro comercial al 5% durante una hora y posteriormente lavados con agua corriente.

El agua de aclimatación, fue tomada de la llave, desclorinada y aerada 24 hrs. antes de la introducción de los organismos. Las bolsas en que se transportaron los peces, fueron puestas dentro de

los acuarios, y se dejaron hasta que alcanzaron la temperatura del agua externa; enseguida, fueron cuidadosamente introducidos a la misma controlándose la capacidad de carga (0.8 g. de pez/l de agua, según Peltier, op. cit.).

El período de aclimatación, fue en todos los casos, de un mínimo de dos semanas, en las cuales, fue determinada la calidad del agua por lo menos dos veces por semana, con base en los parámetros de alcalinidad total como CaCO_3 , dureza total como CaCO_3 , oxígeno disuelto, pH, temperatura y conductividad.

Los organismos se alimentaron con alimento comercial, en una proporción del 3% de la biomasa total, y una vez al día, los excesos de alimento y materia fecal fueron removidos del fondo por sifoneo (renovando un tercio del total del agua como mínimo una vez por semana). Además, se hicieron observaciones continuas sobre enfermedades, daños físicos y mortalidad, siendo sacados aquéllos peces que presentaran cualesquiera de estas anomalías, para que no se afectaran los resultados de las pruebas. Se evitó en este período cualquier stress adicional, dejándose de alimentar los organismos 48 hrs. antes de los experimentos.

3.3. Agua de dilución.

El agua que es necesaria para diluir los desechos, es la misma que se utilizó para la aclimatación, o sea, de la llave, previamente desclorinada y aireada con mangueras de acuario y difusores de piedra.

Se utilizaron 3 acuarios de vidrio de 225 l. de capacidad, para su almacenamiento. El agua se preparó 24 hrs. antes de ser utilizada y fueron realizados muestreos periódicos para determinar: pH, alcalinidad total como CaCO_3 , dureza total como CaCO_3 , oxígeno disuelto, temperatura y conductividad, estos parámetros, para el agua de dilución y para el agua de aclimatación, fueron determinados en el laboratorio donde se realizaron las pruebas.

3.4. Bioensayos exploratorios y formales.

Para la determinación de la concentración de efluente, expresado como un porcentaje en volumen, que es letal al 50% de los organismos, dentro de 96 hrs. de exposición, se realizaron 2 pruebas secuenciales para cada desecho:

- 1) Una prueba exploratoria preliminar, la cual tuvo un período de duración de 24 hrs. Esta fue hecha, con el propósito de obtener un rango de concentraciones del desecho evaluado, que posteriormente se utilizó en la siguiente prueba formal.
- 2) Una prueba formal, o definitiva, la cual tiene un período de duración de 96 hrs. De esta prueba se obtuvo, si existió, la toxicidad aguda para cada desecho, siendo expresada como la concentración letal media CL_{50} .

Tanto para la prueba exploratoria como para la formal, fueron utilizados acuarios de vidrio de 37.5 l. de capacidad, los cuales, cada vez que se utilizaban fueron lavados con detergente, ácido clorhídrico al 5% (para remover metales y bases) y acetona (para remover compuestos orgánicos). Para cada uno de estos tratamientos, fue utilizada agua a una temperatura de 50°C o más, y finalmente enjuagados con agua corriente y agua de dilución. Este mismo procedimiento de lavado, se hizo para todo aquello que entrara en contacto con la solución de prueba, como lo fueron, redes de acuario, sifones de toma de muestras, termómetros, etc.

En los ensayos exploratorios, los organismos fueron expuestos a un amplio intervalo de concentraciones, incrementándose logrítmicamente. Esta serie de concentraciones, fueron en todos los casos: 0.01, 1.0, 10.0, 50.0 y 100.0% de volumen de efluente (p. ej. para el caso de 10% se colocan una parte de desecho por 9 de agua).

En cada lote de concentraciones, que fueron hechas por duplicado, se introdujeron 5 peces; además se colocaron dos acuarios --

testigos, donde los individuos estuvieron expuestos únicamente a agua de dilución.

Para las dos series de prueba, el efluente se añadió al agua de dilución y después se mezcló bien, por medio de un agitador de vidrio. Los organismos, fueron capturados de los acuarios de aclimatación y transferidos a los recipientes de prueba, por medio de las redes de acuario, en un período de 30 minutos.

Tanto los acuarios (incluyendo los testigos), como los organismos, se distribuyeron azarosamente. Los acuarios, previamente etiquetados, se colocaron conforme un sorteo de posiciones en las mesas de experimentación, y los organismos que previamente fueron seleccionados (excluyendo los muy chicos o los muy grandes), se capturaron indiscriminadamente de la fuente stock, siendo colocados en corridas sucesivas, uno a uno sin tomar en cuenta la concentración, hasta que cada lote alcanzara el número requerido.

El rango de concentraciones, para utilizarse en la prueba formal se obtuvo seleccionando aquella concentración de la prueba exploratoria, en que todos o casi todos los individuos sobreviven y aquella concentración donde todos o casi todos mueren.

La mortandad, fue determinada empleando los siguientes criterios: 1) carencia de movimiento opercular, y 2) cuando los peces no reaccionaban a un estímulo físico suave.

La prueba formal, fue realizada colocando 10 individuos por cada una de las 5 concentraciones de prueba, por duplicado, y 2 testigos. La selección de concentraciones a probar, que están dentro del rango obtenido de la prueba exploratoria, fueron determinados de la tabla I, que está basada en una progresiva bisección de intervalos, sobre una escala logarítmica y cuyos valores, pueden ser multiplicados o divididos entre 10, según se requiera, p. ej., si el rango determinado por la prueba exploratoria, está entre 10 y 1%, entonces, las concentraciones para la prueba formal, serían: 10, 5.6, 3.2, 1.8 y 1%.

TABLA I. Guía para la selección de concentraciones experimentales, utilizadas en las pruebas formales*.

Columna 1	Columna 2	Columna 3	Columna 4	Columna 5
10.0				
				8.7
			7.5	
				6.5
		5.6		
				4.9
			4.2	
				3.7
	3.2			
				2.8
			2.4	
				2.1
		1.8		
				1.55
			1.35	
				1.15
1.0				

* Tomada del Standard Methods, 1976.

La muestra compuesta del desecho, fue llevada al laboratorio, donde por medio de una resistencia, se elevó la temperatura, hasta alcanzar la del ambiente.

Las concentraciones, se prepararon de la misma forma que en la prueba exploratoria, utilizando probetas de diversos volúmenes.

Los organismos, fueron diariamente cambiados a soluciones nuevas, por traspaso a recipientes contiguos.

La aereación o no, de los recipientes de experimentación en la prueba formal fue determinado, por un lado, tomando en cuenta el oxígeno disuelto de la prueba exploratoria y por otro, el oxígeno no disuelto de los análisis fisicoquímicos del 100% del desecho; esto se hizo para tratar de mantener los niveles de oxígeno en 4 mg/l como mínimo, a lo largo de la prueba. (Este valor corresponde aproximadamente al 57% de saturación de oxígeno para la ciudad de México a 20°C, siendo adecuado hasta un 40% según Peltier, op. cit.).

Cada 24 hrs., tanto en la prueba formal, como en la exploratoria, se determinaron los mismos parámetros medidos en el agua de dilución y aclimatación. En el caso de la prueba formal, esto fue realizado, antes y después de renovar la solución de prueba, siendo esto hecho con el propósito de:

- 1) Determinar las condiciones fisicoquímicas a lo largo de toda la prueba.
- 2) Verificar variaciones diarias.
- 3) Interpretar las posibles causas de mortandad.

La toma de muestras, se realizó por medio de perillas de succión y sifones de vidrio con manguera de látex, colocados en la parte intermedia del acuario.

La alimentación de los organismos se suspendió 48 hrs. previo a los ensayos y durante la fase experimental.

Se realizaron registros de mortandad, a los siguientes tiempos: 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 y 96 hrs. Los organismos -- muertos eran sacados inmediatamente.

El volumen de solución de prueba, se seleccionó con base en la regla general para pruebas estáticas, que consiste en mantener por lo menos, 0.8 g. o menos por cada litro de agua. Para esto, -- se sacó una muestra de peces previamente a la prueba, los cuales, fueron pesados para saber aproximadamente el promedio de la población.

Al finalizar cada experimento, se procedió a pesar todos los peces utilizados, mediante una balanza analítica, siendo determina da también su longitud total.

3.5. Análisis de resultados.

Las concentraciones letales medias de cada desecho CL_{50} , fueron obtenidas aplicando a los datos de mortandad dos métodos de análisis diferentes. Estos métodos están basados en el modelo de probabilidad normal o "Probit" y son el propuesto por Litchfield y Wilcoxon (1949) y el Análisis "Probit" por Finney (1964).

Los pasos seguidos para el primer método se encuentran desarrollados en el apéndice. Para el caso del Análisis "Probit" fueron utilizados los paquetes de computación de la Biomedical Computer Programs y el Statistical Analysis System, los cuales son presentados por Calderón e Infante (1980).

Los dos métodos permiten obtener tanto las concentraciones letales medias, como sus límites de confianza para un 95% de probabilidad.

Para cada método, los datos fueron procesados primeramente utilizando las mortandades obtenidas en la serie de concentraciones originales y sus réplicas de forma separada, calculando los CL_{50} y sus límites de confianza, primero para una serie y posteriormente --

para la otra (réplicas). Enseguida, estos CL_{50} fueron comparados - para establecer si existían diferencias significativas entre ellos, mediante el traslape de sus límites de confianza y utilizando la fórmula sugerida por el Standard Methods (A.P.H.A., 1980):

$$f_{1,2} = \text{antilog} \sqrt{(\log f_1)^2 + (\log f_2)^2}$$

donde:

f = factor para delimitar los límites de confianza para 95% de probabilidad del CL_{50} , siendo el límite superior = $CL_{50} \times f$, y el límite inferior = $CL_{50} \div f$.

entonces:

Si la relación $\frac{CL_{50 \text{ mayor}}}{CL_{50 \text{ menor}}}$ excede del valor determinado de $f_{1,2}$,

los CL_{50} son significativamente diferentes.

Esto fue hecho con el objeto de determinar la reproducibilidad de la prueba y para que si los CL_{50} no son significativamente diferentes entonces se proceda a realizar el análisis conjunto de las 2 series, es decir, agrupando los datos de mortandad tanto del lote original de concentraciones de prueba, como sus respectivas réplicas. Esto permite obtener un CL_{50} y sus límites de confianza con mayor precisión, ya que un incremento en el tamaño de muestra de organismos, nos brinda una disminución del error estándar del CL_{50} determinado (Jensen, 1972).

En los casos en los que fue posible, se obtuvo el umbral de toxicidad o CL_{50} incipiente mediante la construcción de una curva de toxicidad.

El procedimiento de la construcción de una curva de toxicidad, consiste en graficar una serie de concentraciones letales medias, p. ej. CL_{50} para 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72 y 96 hrs. sobre una escala probabilística v.s. los tiempos de exposición sobre la escala logarítmica

ca en el papel log-probabilidad que se muestra en el apéndice ---
(Sprague, 1969).

Quando la curva llegue a ser asintótica al eje del tiempo ind
cará que la letalidad aguda ha terminado y por lo tanto este punto
será el umbral buscado. Para corroborar que el umbral no varía -
significativamente al transcurrir el tiempo, pueden ser aplicadas
las pruebas de paralelismo de dos líneas y la estimación de la po-
tencia relativa de éstas, presentadas también por Litchfield y Wil
coxon, op. cit.

Un análisis de los diferentes stocks de peces utilizados se -
realizó aplicando el método gráfico de distribución de frecuencias
mediante el uso de papel probabilidad propuesto por Harding (1949),
con respecto al peso y longitud. Este método fue aplicado para de-
terminar la heterogeneidad de la muestra. Por otra parte, se apli-
có la prueba de t de Student para inferir si existen diferencias --
significativas entre las poblaciones muestreadas.

4. RESULTADOS Y DISCUSION.

Los efluentes evaluados, fueron seleccionados con base en la cantidad de agua que utilizan y el volumen que descargan los diferentes sectores a los que pertenecen; además, se consideró la potencialidad de desarrollo y el número de industrias semejantes a ellas que vierten sus desechos a diferentes cuerpos de agua.

Se ha estimado (S.R.H., 1976) que la industria química, la de la refinación de petróleo y la de celulosa y papel, descargan el 30% de agua residual industrial del país.

En la actualidad existen 9 plantas de refinación de petróleo en operación: la de Azcapotzalco, D.F., que descarga sus aguas residuales al gran canal del desagüe; la de Cadereyta, N.L., al río Ayancaual; la de Madero, Tamps., al río Pánuco; la de Minatitlán, Ver., al río Coatzacoalcos; la de Poza Rica, Ver., al río Cazonas; la de Reynosa, Tamps., al río Bravo; la de Salamanca, Gto., al río Lerma, la de Salina Cruz, Oax., al Océano Pacífico y la de Tula, Hgo., al río Tula.

Con respecto a FERTIMEX, se encuentran en funcionamiento: la unidad Cuautitlán, cuyas aguas residuales desembocan al gran canal del desagüe; la de San Luis Potosí, S.L.P., que descarga al río Santiago; la de Camargo, Chih., al río Florido afluente del río Conchos; la de Monclova, Coah., al arroyo Frontera afluente del río Monclova; la de Salamanca, Gto., al río Lerma; la de Minatitlán, Ver., al arroyo Buenavista; la de Cosoleacaque, Ver., a la laguna colorada, afluente del río Colorado (Formas PCA-2 de registro de descarga, S.A.R.H.).

Por otra parte, la industria del papel abarca a 38 plantas, de las cuales 14 se encuentran en el Edo. de Méx., 10 en el D.F., 3 en N.L., 1 en Ver., 2 en Tlax., 2 en Jal., 1 en Chih., 1 en Mich., 1 en Mor., 1 en Qro., 1 en S.L.P. y 1 en Pue. (Cámara Nacional de las Industrias de la Celulosa y el Papel, 1981).

Dada la complejidad que generalmente presentan los desechos - de este tipo de industrias, se utilizaron a los bioensayos estáticos con renovación cada 24 hrs., debido a que en las pruebas estáticas pueden existir factores que pueden influir en la verdadera evaluación tóxica de los desechos. Dentro de estos factores, se han mencionado entre otros, que los compuestos de la solución de prueba, pueden experimentar disminución por volatilización, degradación o acumulación por los organismos, así como también por actividad microbiana y adsorción a las paredes de los recipientes de prueba (Buikema, et. al., 1982; Peltier, 1978; U.S.E.P.A., 1974).

Con respecto a la especie de prueba, Peltier op. cit., recomienda no usar peces inmaduros (es decir, que no tomen activamente alimento exógeno) o recientemente desovados, sugiriendo individuos entre 0.5 y 5 g. de peso, debido a que los organismos jóvenes son muchas veces más sensitivos a los tóxicos que los adultos, además de ser más fácilmente manejables en el laboratorio desde el punto de vista de espacio y manipulación. Sin embargo, se ha mencionado también que los individuos de prueba, así como el agua de dilución de los desechos, son convenientes mientras no se presenten mortandades significativas tanto en el período de aclimatación (mayor al 5%) como en los testigos de la prueba exploratoria y formal (mayor al 10%) (Buikema op. cit.). Los resultados obtenidos se presentan a continuación.

Aclimatación.

Los parámetros determinados al agua de aclimatación y de dilución de los desechos, se muestran en la tabla II. En general, en ésta la alcalinidad fue poco notable con dureza típica de aguas susceptibles de explotación piscícola, según la clasificación presentada por Arrignon (1979). El pH fue alcalino y el oxígeno disuelto - siempre superior a 4 mg/l, valor que se ha demostrado no causar efectos sobre muchos organismos acuáticos (Mc Neely et. al., 1979).

Durante el período de aclimatación previo a cada bioensayo no se observó una mortandad significativa (mayor o igual al 5%) o signos de enfermedad que indicara que habría que hacer el cambio de organismos o el agua utilizada.

TABLA II. Valores promedio y de sviación estándar de los parámetros físicoquímicos del agua de aclimatación y dilución.

PARAMETRO (mg/l)	ACLIMATACION			DILUCION		
	R	Q	P	R	Q	P
Oxígeno Disuelto	5.1±0.3	5.1±0.2	5.3±0.2	5.8±0.5	6.0±0.5	6.0±0.4
Alcalinidad total (CaCO ₃)	108±6.1	75±3.0	82±4.3	100±4.8	70±5.2	78±3.3
Dureza Total (CaCO ₃)	93±0.1	80±8.3	78±7.1	96±10.8	82.6±6.3	87.7±5.5
pH	8.0±0.1	8.0±0.1	8.0±0.1	8.1±0.1	8.0±0.1	8.1±0.1
Temperatura (°C)	22.5±1.0	21.5±1.0	21±1.0	22.5±1.0	21.5±1.0	21.5±1.0
Conductividad (µmhos/cm)	200±8.7	195±7.3	170±4.4	185±10.1	178±7.7	165±5.1

R = Refinería Azcapotzalco

Q = Química FERTIMEX

P = Papelera Loreto y Peña Pobre

4.1 Bioensayo para la Refinería de Azcapotzalco.

El efluente, según los valores de los parámetros mostrados en la tabla III, presenta las siguientes características en referencia a la tabla IV donde se muestran tanto datos comparativos como permisibles, que han sido establecidos para la protección de la vida acuática: aguas incrustantes, muy duras, con alcalinidad muy intensa, con pH fuertemente alcalino, anóxicas y con altas demandas de oxígeno. Con concentraciones moderadas de sulfatos, detergentes, arsénico, cianuro, cromo, plomo, níquel, cobre y mercurio. Además presenta gran cantidad de sólidos suspendidos, fenoles, hierro, zinc y amonio.

Observando los porcentajes de disminución de los parámetros presentados (Tabla III), se establece que los fenoles y el hierro no fueron persistentes en la solución de prueba, según el criterio establecido por Peltier (1978), el cual menciona que una disminución mayor al 50% se considera no persistencia. La demanda bioquímica y química de oxígeno obviamente disminuyó en mayor proporción que 50% de la cantidad inicial, al oxidarse la materia. Los sólidos suspendidos disminuyeron al sedimentarse, volatilizarse o degradarse. Todos los demás parámetros se consideraron persistentes en un período de 0 a 96 hrs.

El comportamiento de la solución aireada respecto a la no aireada es muy semejante, variando exclusivamente la concentración de fenoles de un sistema a otro debido a la oxidación más rápida de éstos en la situación aireada. El problema de los compuestos que tienden a degradarse o descomponerse, se considera relativamente solucionado al estar renovando la solución de prueba al menos cada 24 hrs., permitiendo con esto restablecer las condiciones originales de concentración.

El bioensayo exploratorio, el cual fue realizado sin aireación determinó un intervalo para la prueba formal de 0.01 a 1%, debido a las mortalidades obtenidas y registradas en la tabla V; el oxígeno disuelto a partir de la concentración de 10% tiene un va-

TABLA III. Valores de los parámetros fisicoquímicos determinados - en el efluente de la Refinería al 100% de concentración, a las 0, 24 y 96 hrs. de su colecta y su porcentaje de - disminución.

PARAMETRO (mg/l)	CON AERACION				SIN AERACION			
	0 hrs.	24 hrs.	96 hrs.	% ^a	0 hrs.	24 hrs.	96 hrs.	% ^a
Alcalinidad total, CaCO ₃	558	*	426	0.0	546	*	406	25.6
Dureza total, CaCO ₃	540	*	509	5.8	502	*	532	0.0
Temperatura (°C)	22	21.5	22	0.0	22	22	22	0.0
pH	12.3	12.0	11.5	6.5	12.3	12.1	11.7	4.8
Oxígeno disuelto	0.0	2.0	3.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Conductividad **	1739	*	1882	0.0	1727	*	1600	7.3
DBO ₅	405	*	111	72.6	371	*	81	78.2
DQO	1409	*	268	81.0	1215	*	403	66.8
Graças y aceites	267	*	1006	0.0	187	*	150	19.8
Sulfatos	258	*	298	0.0	231	*	245	0.0
Fósforo (PO ₄)	0.06	*	0.10	0.0	0.08	*	0.3	0.0
N - (NO ₂)	0.003	*	0.002	33.3	0.002	*	0.003	0.0
N - (NO ₃)	0.003	*	0.003	0.0	0.01	*	0.01	0.0
N - (NH ₃)	278.9	*	234.2	16.0	179.6	*	443.7	0.0
N - (orgánico)	37.18	*	275.2	0.0	29.57	*	102.9	0.0
N - (total)	316	*	509.5	0.0	209.1	*	546.6	0.0
Sólidos totales	1532	*	1356	11.5	1388	*	1070	23.0
Sólidos suspendidos	740	*	115	84.5	580	*	30	95.0
Detergentes (SAAM)	1.8	*	1.25	0.0	0.75	*	1.8	0.0
Fenoles	15.59	*	1.17	92.4	16.81	*	10.59	37.0
Fluoruros	*	*	*	*	*	*	*	*
Arsénico	0.03	*	0.04	0.0	0.03	*	0.02	33.3
Cianuro	0.001	*	0.001	0.0	0.001	*	0.001	0.0
Cromo, Cr ⁺⁶	<0.01	*	<0.01	0.0	<0.01	*	<0.01	0.0
Mercurio	<0.005	*	<0.005	0.0	<0.005	*	<0.005	0.0
Plomo	0.016	*	0.016	0.0	0.016	*	0.011	30.7
Hierro	1.48	*	0.68	54.0	1.0	*	0.19	82.0
Níquel	<0.1	*	<0.1	0.0	<0.1	*	<0.1	0.0
Cobre	<0.05	*	<0.05	0.0	<0.05	*	<0.05	0.0
Zinc	0.08	*	0.06	25.0	0.05	*	0.06	0.0

a = porcentaje de disminución de 0 a 96 hrs.

< = menor al mínimo valor detectable

* no se determinó

** (µmhos/cm.)

TABLA IV. Valores establecidos para la protección de la vida acuática (agua dulce).

Parámetro	Límite permisible (mg/l)	Referencia
Dureza total, CaCO_3	150.0	Arrignon, 1979
Alcalinidad total, CaCO_3	250.0	Arrignon, 1979
pH	6.5 - 9.0	Mc Neely et. al., 1979
Oxígeno Disuelto	4.0	Mc Neely et. al., 1979
DBO_5	6.0	Arrignon, 1979
DQO_5	6.0	Arrignon, 1979
Grasas y Aceites	sin película visible	S.R.H., S.S.A., 1973
Sulfatos	250.0*	Mc Neely et. al., 1979
Fosfato total	0.1	Mc Neely et. al., 1979
N - (NO_2)	1.0	Arrignon, 1979
N - (NO_3)	0 - 11	Arrignon, 1979
N - (NH_3) no ionizado	0.025	Alabaster y Lloyd, 1980
Sólidos suspendidos	25.0	Mc Neely et. al., 1979
Detergentes (SAAM)	3.0	S.R.H., S.S.A., 1973
Fenoles	0.001	Mc Neely et. al., 1979
Fluoruros	1.5	Wilber, 1971
Arsénico	0.05	Mc Neely et. al., 1979
Cianuro	0.005	Mc Neely et. al., 1979
Cromo, Cr^{+6}	0.1	Mc Neely et. al., 1979
Mercurio	0.0002	Mc Neely et. al., 1979
Plomo	0.03	Mc Neely et. al., 1979
Fierro	0.3	Mc Neely et. al., 1979
Níquel	0.025	Mc Neely et. al., 1979
Cobre	0.005	Mc Neely et. al., 1979
Zinc	0.03	Mc Neely et. al., 1979

* Límite de potabilidad.

TABLA V. Caracterización de parámetros fisicoquímicos a lo largo del bioensayo exploratorio con el efluente de la Refinería y sus correspondientes valores de mortandad.

Conc. (% en vol.)	No. de organismos expuestos.	No. de organismos muertos a las 24 hrs.	PARAMETROS FISICOQUIMICOS									
			Oxígeno Disuelto (mg/l)		pH		Alcalinidad total (CaCO ₃ mg/l)		Temperatura (°C)		Conductividad (µmhos/cm)	
			0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.
Testigo	5	0	6.0	4.2	8.0	7.9	100	98	22.0	22.5	200	210
Réplica	5	0	6.0	4.0	8.0	7.9	100	100	22.0	22.5	205	208
0.01	5	0	4.4	2.8	8.2	8.1	106	100	22.5	23.0	218	224
Réplica	5	1	4.6	2.6	8.2	8.2	100	98	22.0	22.5	220	219
1.0	5	5	3.0	0.0	9.5	9.2	146	150	22.0	22.5	358	363
Réplica	5	5	3.2	0.8	9.5	9.2	146	144	22.0	22.0	384	360
10.0	5	5	0.0	0.0	11.2	11.1	354	360	22.0	22.0	560	568
Réplica	5	5	0.0	0.0	11.2	11.0	360	362	22.5	23.0	555	564
50.0	5	5	0.0	0.0	12.0	12.0	400	400	22.5	23.0	990	998
Réplica	5	5	0.0	0.0	12.0	12.0	402	406	22.0	22.0	985	988
100.0	5	5	0.0	0.0	12.3	12.2	538	530	22.0	22.0	1740	1742
Réplica	5	5	0.0	0.0	12.3	12.4	544	538	22.0	22.0	1738	1730

2

TABLA V. Caracterización de parámetros fisicoquímicos a lo largo del bioensayo exploratorio con el efluente de la Refinería y sus correspondientes valores de mortandad.

Conc. (% en vol.)	No. de organismos expuestos.	No. de org. muertos a las 24 hrs.	PARAMETROS FISICOQUIMICOS									
			Oxígeno Disuelto (mg/l)		pH		Alcalinidad total (CaCO ₃ mg/l)		Temperatura (°C)		Conductividad (µmhos/cm)	
			0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.
Testigo	5	0	6.0	4.2	8.0	7.9	100	98	22.0	22.5	200	210
Réplica	5	0	6.0	4.0	8.0	7.9	100	100	22.0	22.5	205	208
0.01	5	0	4.4	2.8	8.2	8.1	106	100	22.5	23.0	218	224
Réplica	5	1	4.6	2.6	8.2	8.2	100	98	22.0	22.5	220	219
1.0	5	5	3.0	0.0	9.5	9.2	146	150	22.0	22.5	358	363
Réplica	5	5	3.2	0.8	9.5	9.2	146	144	22.0	22.0	384	360
10.0	5	5	0.0	0.0	11.2	11.1	354	360	22.0	22.0	560	568
Réplica	5	5	0.0	0.0	11.2	11.0	360	362	22.5	23.0	555	564
50.0	5	5	0.0	0.0	12.0	12.0	400	400	22.5	23.0	990	998
Réplica	5	5	0.0	0.0	12.0	12.0	402	406	22.0	22.0	985	988
100.0	5	5	0.0	0.0	12.3	12.2	538	530	22.0	22.0	1740	1742
Réplica	5	5	0.0	0.0	12.3	12.4	544	538	22.0	22.0	1738	1730

lor de 0 y en 1% de 3.1 mg/l, pero al transcurrir 24 hrs. de duración éste disminuye hasta 0. Por ésto, y porque los valores de pH son altos para la concentración de 1% se decidió no tomar en cuenta este valor para las concentraciones de la prueba formal (ver tabla V). Las concentraciones elegidas para tal prueba fueron: 0.01, 0.025, 0.05, 0.10 y 0.50% del desecho. La prueba formal tuvo que ser necesariamente aereada debido a que en la concentración más baja de 0.01% en la exploratoria, se observa que el oxígeno disuelto disminuye por debajo de 4 mg/l después de 24 hrs.

Es importante notar que aún diluyendo el desecho hasta la concentración de 10%, éste presenta un pH muy alto, oxígeno disuelto de 0 mg/l y alcalinidad muy intensa (Tabla V).

En el bioensayo formal fueron registradas las mortandades que se presentan en la tabla VI. En ésta, se observan también los CL_{50} determinados para 48, 72 y 96 hrs. de exposición, así como sus límites de confianza para un 95% de probabilidad, obtenidos por los dos métodos de análisis utilizados. Estos valores fueron determinados tomando como tamaño de muestra 20 individuos por concentración, ya que las concentraciones letales medias obtenidas a partir de las respuestas generadas por 10 individuos, es decir, del acuario original y su réplica, en ningún caso fueron significativamente diferentes. Los valores determinados por los dos métodos son muy semejantes, considerándose al análisis "Probit" de mayor precisión. Así, se determinó que 0.37% del desecho es capaz de matar al 50% de la -población en 48 hrs., 0.11% lo hace en 72 hrs. y 0.044% en 96 hrs. Además, existe la posibilidad de que aumentando el tiempo de exposición se obtengan valores todavía más bajos que sean capaces de producir este efecto. La representación gráfica de estos CL_{50} se muestra en la fig. 1.

La prueba formal, transcurrió según las características físico químicas mostradas en la tabla VII. El oxígeno disuelto únicamente disminuyó por debajo de 4 mg/l en la concentración más alta de 0.5%, teniendo un valor mínimo de 3.3 mg/l al cumplirse 24 hrs. después -de la renovación. Aunque este valor es bajo, puede considerarse su

TABLA VI. Mortandad y concentraciones letales medias (CL_{50}) determinadas en el bioensayo formal con la Refina-
ría de Azcapotzalco.

Concentra- ción del de secho (% - en volu- - men).	No. de organis- mos expuestos.	No. de organismos muertos en			
		24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs
0.50	10	3	5	10	10
réplica	10	3	6	10	10
0.10	10	1	3	5	8
réplica	10	1	2	3	10
0.05	10	0	0	1	6
réplica	10	0	0	1	4
0.025	10	0	0	1	1
réplica	10	0	0	1	2
0.01	10	0	0	1	1
réplica	10	0	0	1	1
testigo	10	0	0	0	0
réplica	10	0	1	1	1
CL_{50} estimado gráficamente en %	-	0.32	0.12	0.046	
Límites de confianza (95%)	-	0.50 0.20	0.177 0.081	0.065 0.032	
CL_{50} estimado por análisis Probit	-	0.37	0.11	0.044	
Límites de confianza (95%)	-	0.86 0.22	0.172 0.074	0.061 0.033	

TABLA VII. Valores promedio y desviación estándar de los parámetros registrados durante el bioensayo formal para la Refinería de Azcapotzalco.

Conc. (%)	O.D. (mg/l)	pH	temperatura (°C)	alcalinidad total (mg/l)	conductividad (µmhos/cm)
Testigos	5.6±0.5	8.0 ±0.1	22 ±1.0	97.8±6.2	199.8 ± 8.6
0.01	5.6±0.5	8.1 ±0.1	22 ±1.0	103.7±7.5	203.6 ± 7.6
0.025	5.5±0.4	8.1 ±0.1	22 ±1.0	103.1±6.1	201.4 ± 9.1
0.05	5.4±0.5	8.1 ±0.1	22 ±1.0	105.2±4.8	208.9±13.0
0.10	5.2±0.5	8.1 ±0.1	22 ±1.0	107.5±8.0	208.8±13.2
0.50	3.8±0.5	8.1 ±0.1	22 ±1.0	106.0±7.5	212.8 ± 8.2

TABLA VIII. Valores promedio y desviación estándar de los pesos y longitudes totales de todos los peces utilizados en el bioensayo formal de la Refinería.

No. de org. utilizados	concentración (%)	org. por conc.	peso \bar{x} (g)	longitud \bar{x} (cm)	relación p/v (g/l)
180*	testigo	10	0.10±0.04	2.0 ± 0.3	0.06
	réplica	10	0.11±0.04	2.1 ± 0.23	0.05
peso \bar{x} poblacional (g)	0.01	10	0.12±0.05	2.13±0.3	0.06
	réplica	10	0.09±0.04	2.03±0.4	0.05
0.12 0.04 longitud \bar{x} poblacional (cm)	0.025	10	0.10±0.04	2.01±0.3	0.05
	réplica	10	0.09±0.04	1.99±0.11	0.05
2.12 0.3	0.05	10	0.10±0.03	2.06±0.2	0.05
	réplica	10	0.10±0.03	2.08±0.2	0.05
vol. de sol. de prueba (l)	0.10	10	0.10±0.02	2.08±0.2	0.05
	réplica	10	0.10±0.03	2.03±0.2	0.05
20	0.50	10	0.17±0.04	2.31±0.2	0.08
	réplica	10	0.13±0.05	2.19±0.2	0.06

* Tomando en cuenta el bioensayo exploratorio y el formal.

ficiente según los datos aportados por Itazawa (1971), para Cyprinus carpio.

El pH en general fue alcalino, dentro de lo tolerable por la especie ya que se considera que Cyprinus carpio se desarrolla mejor con un pH ligeramente alcalino de 7.6 como óptimo y de 5 a 9 en los extremos (Secretaría de Pesca, 1982). No se presentaron variaciones mayores de 0.1 unidades de pH, siendo adecuado, porque es conocido que variaciones mayores de ± 0.3 pueden ser críticas para la toxicidad de algunos compuestos tales como el amonio y el cianuro (Sprague, 1973). La temperatura, alcalinidad y conductividad no presentaron variaciones importantes y mostraron valores adecuados.

El peso y la longitud promedio de los organismos utilizados según se muestra en la tabla VIII fueron de 0.12 ± 0.04 g. y 2.12 ± 0.3 cm. respectivamente. La relación peso-volumen (g/l), establecida en cada acuario, nunca excedió de 0.8 g. por cada litro de agua, valor que se ha considerado máximo en pruebas estáticas para mantener buenos niveles de oxígeno (Peltier, 1978).

Aunque los organismos fueron pequeños, se consideraron adecuados, ya que en el período de aclimatación y en los testigos tanto de la prueba exploratoria como de la formal no se presentaron mortandades significativas. Además, eran individuos de aproximadamente 2 meses de edad, lo que los hace activos consumidores de alimento del medio exterior debido a que es sabido, que esta especie absorbe el saco vitelino de 5 a 8 días después de la eclosión (Secretaría de Pesca, op. cit.).

Con respecto a los tóxicos que pudieron influir en la mortandad observada, se puede mencionar entre otros a los fenoles, fierro, zinc, amonio y los sólidos suspendidos que son los que en el desecho sobrepasan los niveles permisibles para proteger a la vida acuática presentados anteriormente.

Previamente a la muerte de los organismos, se presentó la pérdida de equilibrio con un nado errático, hiperventilación y producción excesiva de mucus; estos síntomas, han sido observados

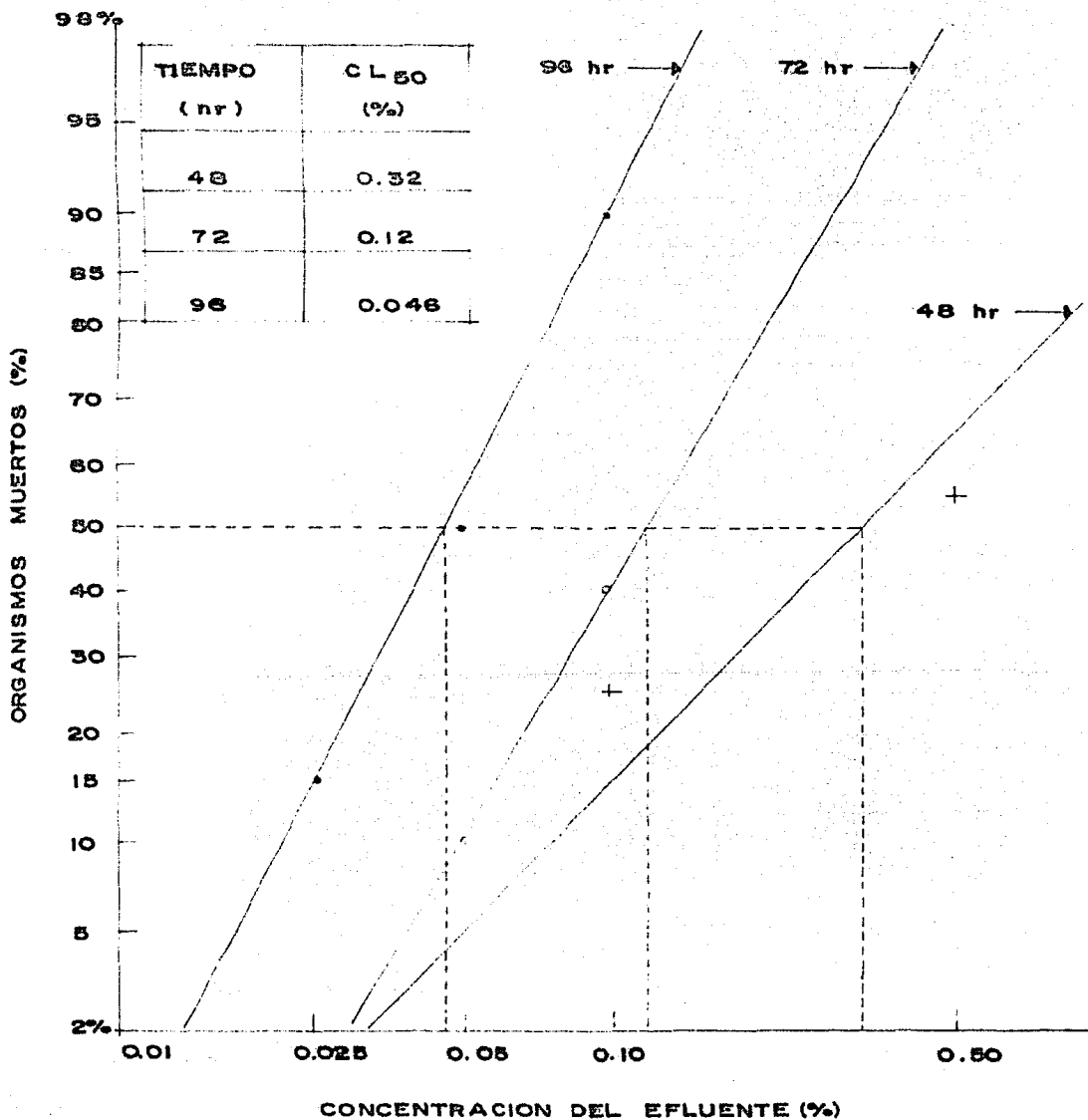


Fig. 1 Valores estimados de las concentraciones totales medias (CL₅₀) para 48, 72 y 96 hr con el efluente de la Refinería.

en otras investigaciones tales como las de Veselov (1977), Greven (1953) y Lukanenko (1967) en referencia al fenol. El primero, observó un incremento en la respiración, el segundo un aumento en la secreción de mucus y el último la pérdida de equilibrio interrumpida por convulsiones ocasionales.

Los fenoles no sólo pueden afectar a los peces por su toxicidad directa a ellos, sino que como son oxidables, contribuyen a la disminución del oxígeno disuelto de las aguas donde son introducidos, afectando a otros organismos, ya que por un lado disminuye el oxígeno disuelto y por otro al disminuir éste, se sabe que se aumenta la toxicidad del fenol (Alabaster y Lloyd, 1980). Se puede notar que en el desecho de la Refinería de Azcapotzalco (Tabla III), rebasa el valor permitido para la protección de la vida acuática (Tabla IV) hasta en 16,810 veces.

El efecto agudo del fenol, es generalmente atribuido a que provoca parálisis nerviosa, además ocasiona sabores indeseables en la carne comestible del pez (Lukanenko, op. cit.).

La toxicidad del zinc, es modificada por la calidad del agua, siendo reducida cuando incrementa la dureza, temperatura y sólidos suspendidos, e incrementada por una disminución en el oxígeno disuelto (Alabaster y Lloyd, op. cit.). Estos factores pudieron estar influyendo en la toxicidad de la mezcla, además de que es conocido que el zinc en presencia de otros metales pesados, presenta un efecto sinérgico, como es el caso del cobre al cual, a su vez le ejerce un efecto antagónico el cianuro (Wilber, 1971). El modo de acción del zinc no está totalmente entendido, pero su toxicidad es atribuible al ión zinc, aún cuando partículas en suspensión como carbonatos o hidróxidos pueden ser tóxicos también. El efecto directo hacia el pez, se dice que es la destrucción del epitelio branquial así como también efectos crónicos sobre varios órganos y sistemas enzimáticos (Alabaster y Lloyd, op. cit.).

Otro tóxico importante es el amonio, sus efectos dañinos sobre el pez están relacionados al valor de pH y a la temperatura, debido al hecho de que solamente la fracción no ionizable es tóxica. La

fracción no ionizable se incrementa con la elevación del pH y con el incremento en temperatura (Alabaster y Lloyd op. cit.). De tal manera que, como fue observado en la prueba exploratoria, a medida que aumenta la concentración del desecho, aumenta el pH y por lo tanto la toxicidad del amonio. Dado el pH de 12 que presenta el desecho de la Refinería así como su temperatura de 22°C (Tabla III) se puede decir que todo el amonio detectado es no ionizado en base a los datos presentados por Peltier, op. cit. de porcentaje de amonio no ionizado en relación al pH y temperatura del agua. Es importante señalar también que los valores encontrados de amonio sobrepasan el valor permitido de 0.025 mg/l (Tabla IV) hasta en 11,154 veces (Tabla III). Además de lo extremadamente tóxico que puede ser el encontrar gran cantidad de amonio no ionizado, se sabe que el fenol puede ejercer efectos sinérgicos al estar mezclados (Wilber, op. cit.).

Varios autores han demostrado que la exposición de un pez al amonio tiene como resultado un daño al epitelio branquial (Flis, 1968; Smart, 1976), así como severos daños a nivel de sangre (disminuye el número normal de eritrocitos), hígado, riñones y cerebro (Alabaster y Lloyd, op. cit.).

Con respecto al fierro, se ha demostrado que cuando una gran cantidad de fierro es añadida al agua en la forma de sales, puede ser precipitado en el agua en contacto con el aire produciendo efectos adversos sobre los organismos, por lo tanto, se ha establecido que un nivel de 0.3 mg/l de fierro total, es suficiente para la protección del ambiente acuático (Mc Neely, et. al.; 1979).

La elevada cantidad de grasas y aceites esperada en este tipo de desechos, puede influir también en la supervivencia de los organismos, ya que éstas al adherirse a las branquias, interfieren con el intercambio gaseoso entre el organismo y el ambiente acuoso, causando asfixia (Wilber, op. cit.).

Por otro lado Cairns (1967), establece que una gran cantidad

de sólidos suspendidos como es el caso del desecho de la Refinería ocasiona en primer instancia un efecto mecánico o abrasivo, refiriéndose a la obstrucción de las branquias, irritación de tejido, -- etc.

El efluente de la Refinería probado tendrá que considerarse -- por todo lo anterior de alta peligrosidad, debido a que concentraciones muy bajas de éste, son capaces de provocar un efecto tóxico en períodos de exposición muy cortos.

4.2. Bioensayo para FERTIMEX.

Las características fisicoquímicas del desecho, son presentadas en la tabla IX. Considerando los valores comparativos presentados anteriormente (Tabla IV), el efluente es agua con alcalinidad muy intensa, pH muy alto, con gran cantidad de sulfatos, fosfatos, sólidos suspendidos (reflejándose también en la alta conductividad), fluoruros, fierro, níquel, cobre, zinc, fenoles, amoniaco, arsénico, mercurio y detergentes. Con buena calidad respecto a la dureza, cianuros y cromo; con concentraciones moderadas de oxígeno disuelto, DQO, DBO₅, grasas y aceites.

Los parámetros persistentes en el desecho en un período de 0 a 96 hrs., como se muestra en la tabla IX son: dureza, pH, DQO, -- sulfatos, detegentes, sólidos totales, fluoruros, arsénico, cianuro, níquel, cobre, zinc, nitrógeno orgánico, nitritos y los nitratos. Los no persistentes (disminución mayor al 50%), fueron: alcalinidad, DBO, grasas y aceites, fosfatos, sólidos suspendidos, fenoles, fierro y nitrógeno amoniacal. Es importante señalar que, -- aunque en un período de 96 hrs., no fueron persistentes, la mayoría de éstos si lo fueron en 24 hrs. por lo que, la renovación a este tiempo los restableció en la prueba formal. Los únicos que -- no pudieron controlarse, fueron los fosfatos y los fenoles, los -- cuales obviamente requerirán menor tiempo de renovación como lo ha mencionado Alabaster (1970). Sin embargo, otros autores tal como Woodwiss y Fretwell (1974), mencionan que estos compuestos se degradan tan rápido, que generalmente no ocasionarán efectos tóxicos en los cuerpos receptores. De cualquier forma, la restitución de

TABLA IX. Valores de los parámetros fisicoquímicos determinados en el efluente de FERTIMEX al 100% de concentración, a las 0, 24 y 96 hrs. de su colecta y su porcentaje de disminución.

PARAMETRO (mg/l)	CON AEREACION				SIN AEREACION			
	0 hrs.	24 hrs.	96 hrs.	% ^a	0 hrs.	24 hrs.	96 hrs.	% ^a
Alcalinidad total, CaCO ₃	1340	800	640	52.2	1340	800	560	58.2
Dureza total, CaCO ₃	110.4	126.5	110.0	0.4	110.0	93.5	104.5	5.5
Temperatura (°C)	21.5	21.5	21.5	0.0	21.5	21.5	21.5	0.0
pH	10.4	10.4	10.0	3.9	10.4	10.4	10.1	2.8
Oxígeno disuelto	2.2	4.4	4.0	0.0	2.1	0.0	0.0	100
Conductividad **	5400	5100	5100	5.5	5400	5100	5000	7.4
DBO ₅	132	104	55	58.3	125	88	51	59.2
DQO	560	390	400	28.6	480	310	280	41.6
Grasas y aceites	50	36	5	90.0	60	23	10	83.3
Sulfatos	1360	1450	1360	0.0	1405	1360	1360	3.2
Fósforo (PO ₄)	12.6	1.78	1.78	85.9	12.0	3.0	3.0	75.0
N - (NO ₂)	0.033	0.03	0.03	0.0	0.03	0.03	0.03	0.0
N - (NO ₃)	0.003	0.005	0.003	0.0	0.005	0.003	0.005	0.0
N - (NH ₃)	212.7	142.4	73.2	65.6	209.6	169.4	78.8	62.4
N - (orgánico)	12.2	10.8	11.2	8.7	11.6	9.4	11.8	0.0
N - (total)	224.9	153.3	84.4	62.5	221.2	173.8	90.5	59.1
Sólidos totales	4670	4352	4228	9.5	4634	4126	4300	7.2
Sólidos suspendidos	600	500	273	54.5	600	320	267	55.5
Detergentes (SAAM)	10.8	10.0	13.0	0.0	10.7	9.0	10.7	0.0
Fenoles	0.27	0.031	0.004	98.5	0.27	0.28	0.03	88.9
Fluoruros	2.27	2.27	2.27	0.0	2.27	2.22	2.17	4.4
Boro	1.71	1.71	1.54	9.0	1.76	1.76	1.29	26.7
Arsénico	0.043	0.12	0.18	0.0	0.073	0.12	0.17	0.0
Cianuro	0.001	0.001	0.001	0.0	0.002	0.002	0.002	0.0
Cromo, Cr ⁺⁶	<0.01	<0.01	<0.01	0.0	<0.01	<0.01	<0.01	0.0
Mercurio	0.006	0.005	0.003	50.0	0.0034	0.0036	0.0022	35.3
Plomo*								
Hierro	2.51	2.45	0.72	71.3	1.67	0.81	0.63	62.3
Níquel	0.12	0.12	0.12	0.0	0.25	0.18	0.16	36.0
Cobre	0.08	0.06	0.08	0.0	0.08	0.08	0.08	0.0
Zinc	0.25	0.19	0.14	44.0	0.17	0.11	0.10	41.2

a = porcentaje de disminución de 0 a 96 hrs.

<= menor al valor detectable

* no se determinó

** (µmhos/cm.)

la mayor parte de los compuestos en un período de 24 hrs., ha permitido que Peltier (1978), considere una alternativa adecuada a -- los bioensayos estáticos con renovación diaria, además de que son relativamente económicos, requieren de poco espacio y poco volumen de desecho, consiguiéndose también una mayor eficiencia en la esti- mación de la toxicidad.

Las mortandades encontradas en el bioensayo exploratorio, mos traron un ámbito para la prueba formal de 1 a 10%, ya que en 1% to dos los peces sobrevivieron y en 10% todos murieron (ver tabla X). Esta prueba se realizó sin aereación, observándose que en la con-- centración de 10% el oxígeno disuelto después de 24 hrs., es casi 0. El pH fue en todos los casos alcalino y aumentó conforme se in crementó la concentración, tendiendo a disminuir en 0.2 unidades - después de 24 hrs., de su colocación en casi todas las concentra-- ciones, incluyendo los testigos; ésto puede observarse en la tabla X. La alcalinidad a partir de 50% de dilución fue alta según los - niveles mostrados por Arrignon (1979). De la misma forma, la dureza a partir de esta concentración confieren al desecho caracterís- ticas de aguas duras. Se presentaron altas conductividades a par- tir del 10% de volumen de desecho. La temperatura se mantuvo cons- tante en 21.5°C.

Las concentraciones seleccionadas para la probable prueba for mal, serían 1.8, 2.4, 4.2, 5.6 y 7.5%. Sin embargo, dadas las mor tandades presentadas después de 24 hrs. de exposición, tuvo a bien considerarse a ésta una segunda prueba exploratoria, debido al - pronunciado efecto letal a partir de la concentración de 4.2% (Ta- bla XI). Aceptar ésta como formal, no hubiera permitido realizar los cálculos para la obtención de los CL_{50} adecuadamente, además - el fenómeno indicó que el ámbito de toxicidad es aún más pequeño. Es entonces por ello, que se eligieron concentraciones entre 1.8 y 4.2%.

Las concentraciones elegidas posteriormente para la prueba -- formal fueron de 1.8, 2.1, 2.4, 2.8 y 3.2%. La segunda prueba ex- ploratoria, mostró que desde 1.8% de concentración el oxígeno des-

TABLA X. Caracterización de parámetros físicoquímicos a lo largo del primer bioensayo exploratorio con el efluente de FERTIMEX y sus correspondientes valores de mortandad.

Conc. (% en vol.)	No. de organismos expuestos.	No. de org. muertos a las 24 hrs.	PARAMETROS FISICOQUIMICOS											
			Oxígeno Disuelto (mg/l)		pH		Alcalinidad total (CaCO ₃ mg/l)		Dureza total (CaCO ₃ mg/l)		Temperatura (°C)		Conductividad (µmhos/cm)	
			0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.
Testigo Réplica	5	0	5.3	4.8	8.0	7.9	76	78	79.4	74.98	21.5	21.5	180	170
	5	0	5.5	4.6	8.0	7.8	78	78	79.4	83.8	21.5	21.5	185	169
0.01 Réplica	5	0	5.1	4.0	8.2	7.9	100	102	88.2	83.8	21.5	21.5	182	185
	5	0	5.3	4.2	8.2	7.9	104	100	88.2	79.4	21.5	21.5	189	185
1.0 Réplica	5	0	4.8	4.0	9.0	8.7	108	106	92.6	88.2	21.5	21.5	221	220
	5	0	5.1	4.0	8.9	8.7	110	110	92.6	83.8	21.5	21.5	220	221
10.0 Réplica	5	5	4.7	0.2	9.7	9.5	126	116	105.9	101.5	21.5	21.5	725	730
	5	5	4.9	0.0	9.5	9.5	122	114	101.5	101.5	21.5	21.5	725	730
50.0 Réplica	5	5	4.7	0.0	10.2	10.1	436	366	127.9	123.5	21.5	21.5	2600	2745
	5	5	4.7	0.0	10.2	10.0	400	368	132.3	123.5	21.5	21.5	2610	2750
100.0 Réplica	5	5	2.2	0.0	10.4	10.2	1340	1000	141.2	136.7	21.5	21.5	5400	5100
	5	5	2.1	0.0	10.4	10.2	1340	1020	145.6	132.3	21.5	21.5	5400	5100

TABLA X. Caracterización de parámetros fisicoquímicos a lo largo del primer bioensayo exploratorio con el efluente de FERTIMEX y sus correspondientes valores de mortandad.

Conc. (% en vol.)	No. de organismos expuestos.	No. de org. muertos a las 24 hrs.	PARAMETROS FISICOQUIMICOS											
			Oxígeno Disuelto (mg/l)		pH		Alcalinidad total (CaCO ₃ mg/l)		Dureza total (CaCO ₃ mg/l)		Temperatura (°C)		Conductividad (µmhos/cm)	
			0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.
Testigo	5	0	5.3	4.8	8.0	7.9	76	78	79.4	74.98	21.5	21.5	180	170
Réplica	5	0	5.5	4.6	8.0	7.8	78	78	79.4	83.8	21.5	21.5	185	169
0.01	5	0	5.1	4.0	8.2	7.9	100	102	88.2	83.8	21.5	21.5	182	185
Réplica	5	0	5.3	4.2	8.2	7.9	104	100	88.2	79.4	21.5	21.5	189	185
1.0	5	0	4.8	4.0	9.0	8.7	108	106	92.6	88.2	21.5	21.5	221	220
Réplica	5	0	5.1	4.0	8.9	8.7	110	110	92.6	83.8	21.5	21.5	220	221
10.0	5	5	4.7	0.2	9.7	9.5	126	116	105.9	101.5	21.5	21.5	725	730
Réplica	5	5	4.9	0.0	9.5	9.5	122	114	101.5	101.5	21.5	21.5	725	730
50.0	5	5	4.7	0.0	10.2	10.1	436	366	127.9	123.5	21.5	21.5	2600	2745
Réplica	5	5	4.7	0.0	10.2	10.0	400	368	132.3	123.5	21.5	21.5	2610	2750
100.0	5	5	2.2	0.0	10.4	10.2	1340	1000	141.2	136.7	21.5	21.5	5400	5100
Réplica	5	5	2.1	0.0	10.4	10.2	1340	1020	145.6	132.3	21.5	21.5	5400	5100

TABLA XI. Caracterización de parámetros físicoquímicos a lo largo del segundo bioensayo exploratorio con el efluente de FERTIMEX y sus correspondientes valores de mortalidad.

Conc. (% en vol.)	No. de organismos expuestos.	No. de org. muertos a las 24 hrs.	PARAMETROS FISICOQUIMICOS											
			Oxígeno Disuelto (mg/l)		pH		Alcalinidad total (CaCO ₃ mg/l)		Dureza total (CaCO ₃ ,mg/l)		Temperatura (° C)		Conductividad (μmhos/cm)	
			0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.
Testigo	10	0	5.6	4.0	8.0	7.9	80	78	74.9	79.4	21.0	21.5	175	172
Réplica	10	0	5.3	4.0	8.0	7.9	78	76	83.8	79.4	21.5	21.5	175	171
1.8	10	0	5.3	3.4	8.3	8.2	86	84	83.8	79.4	21.5	21.5	260	255
Réplica	10	0	5.1	3.6	8.2	8.1	82	86	88.2	83.8	21.5	21.5	263	253
2.4	10	1	5.1	2.8	8.8	8.7	90	88	88.2	83.8	21.5	21.5	300	298
Réplica	10	1	5.1	3.0	8.9	8.7	90	86	92.6	88.2	21.5	21.5	300	296
4.2	10	10	4.8	2.8	9.0	9.0	90	92	97.0	88.2	21.0	21.5	380	375
Réplica	10	10	4.6	2.6	9.1	9.0	92	96	97.0	88.2	21.5	21.5	378	369
5.6	10	10	4.8	0.6	9.1	9.0	100	98	101.5	92.6	21.5	21.5	440	435
Réplica	10	10	4.8	1.0	9.2	9.1	106	98	97.0	97.0	21.5	21.5	442	438
7.5	10	10	4.4	0.0	9.4	9.4	110	112	105.8	105.8	21.5	21.5	600	590
Réplica	10	10	4.2	0.0	9.5	9.3	108	110	101.5	97.1	21.5	21.5	600	595

TABLA XII. Mortandad y concentraciones letales medias (CL₅₀) determinadas en el bioensayo formal con FERTIMEX.

Concentración del desecho (% en vol.)	No. de Organismos expuestos	No. de organismos muertos en							
		1 hr.	2 hrs.	4 hrs.	12 hrs.	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.
3.2	10	6	7	7	10	10	10	10	10
réplica	10	5	6	6	7	7	7	8	8
2.8	10	3	3	6	7	7	8	8	9
réplica	10	5	8	8	8	8	8	8	8
2.4	10	0	2	2	2	2	3	4	4
réplica	10	0	1	1	1	1	1	2	2
2.1	10	0	0	0	0	0	0	0	0
réplica	10	0	1	1	1	1	1	1	1
1.8	10	0	0	0	0	0	1	1	1
réplica	10	0	0	0	0	0	0	0	0
testigo	10	0	0	0	0	0	0	0	0
réplica	10	0	0	0	0	0	0	0	0
CL ₅₀ estimado gráf. (%)		2.91	2.80	2.74	2.68	2.68	2.54	2.49	2.47
Límites de confianza (95%)		3.03 2.79	2.99 2.62	2.93 2.56	2.92 2.45	2.92 2.45	2.79 2.31	2.74 2.26	2.69 2.26
CL ₅₀ estimado por análisis Probit		3.05	2.87	2.80	2.67	2.67	2.61	2.55	2.53
Límites de confianza (95%)		3.33 2.89	3.13 2.70	3.15 2.62	2.82 2.54	2.82 2.54	2.77 2.47	2.70 2.42	2.68 2.40

cendió por debajo de 4 mg/l, dando con esto el criterio de aereación en la prueba formal. Además, se esperarían pH's inferiores a 9, buenas alcalinidades y durezas (ver tabla XI).

La prueba formal, determinó concentraciones letales medias - para 1, 2, 4, 12, 24, 48, 72 y 96 hrs. de exposición, las cuales - pueden observarse junto con la mortandad en la tabla XII. En la - misma, se muestra que los valores estimados por ambos métodos, son muy semejantes y los límites de confianza se traslapan de manera - considerable. De la misma forma que con el bioensayo de la Refine^{ra}, estos niveles fueron obtenidos a partir de un tamaño de muestra de 20 individuos, al agrupar las réplicas y los lotes originales de cada concentración del experimento, dado que no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$).

Al representar gráficamente las rectas obtenidas para cada tiempo de observación (fig. 2), se tiene que los valores de CL_{50} tienden a estabilizarse, conforme aumenta el tiempo de exposición; además el análisis por paralelismo (comparación de pendientes) y potencia (comparación de CL_{50}) determinó que no existen diferencias significativas entre los valores obtenidos a partir de 12 hrs. de exposición. Esto puede visualizarse mejor en la construcción de - una curva de toxicidad (fig. 3), la cual pretende mostrar el transcurso de la prueba.

La curva de toxicidad permite predecir que aunque el tiempo - de exposición se incremente, siempre ejercerá su mismo efecto, en este caso, la muerte sobre el 50% de los organismos. A este valor se le conoce con el nombre de umbral de toxicidad (Sprague, 1969) y en este caso puede decirse que se encuentra alrededor del valor de 2.4% de volumen de desecho.

Los parámetros fisicoquímicos registrados en la prueba formal se señalan en la tabla XIII. El oxígeno disuelto nunca disminuyó de 4 mg/l, el pH fue alcalino no teniendo variaciones considerables y las condiciones de alcalinidad y dureza fueron adecuadas.

La población de organismos tuvo un peso promedio de $0.81 \pm$ --

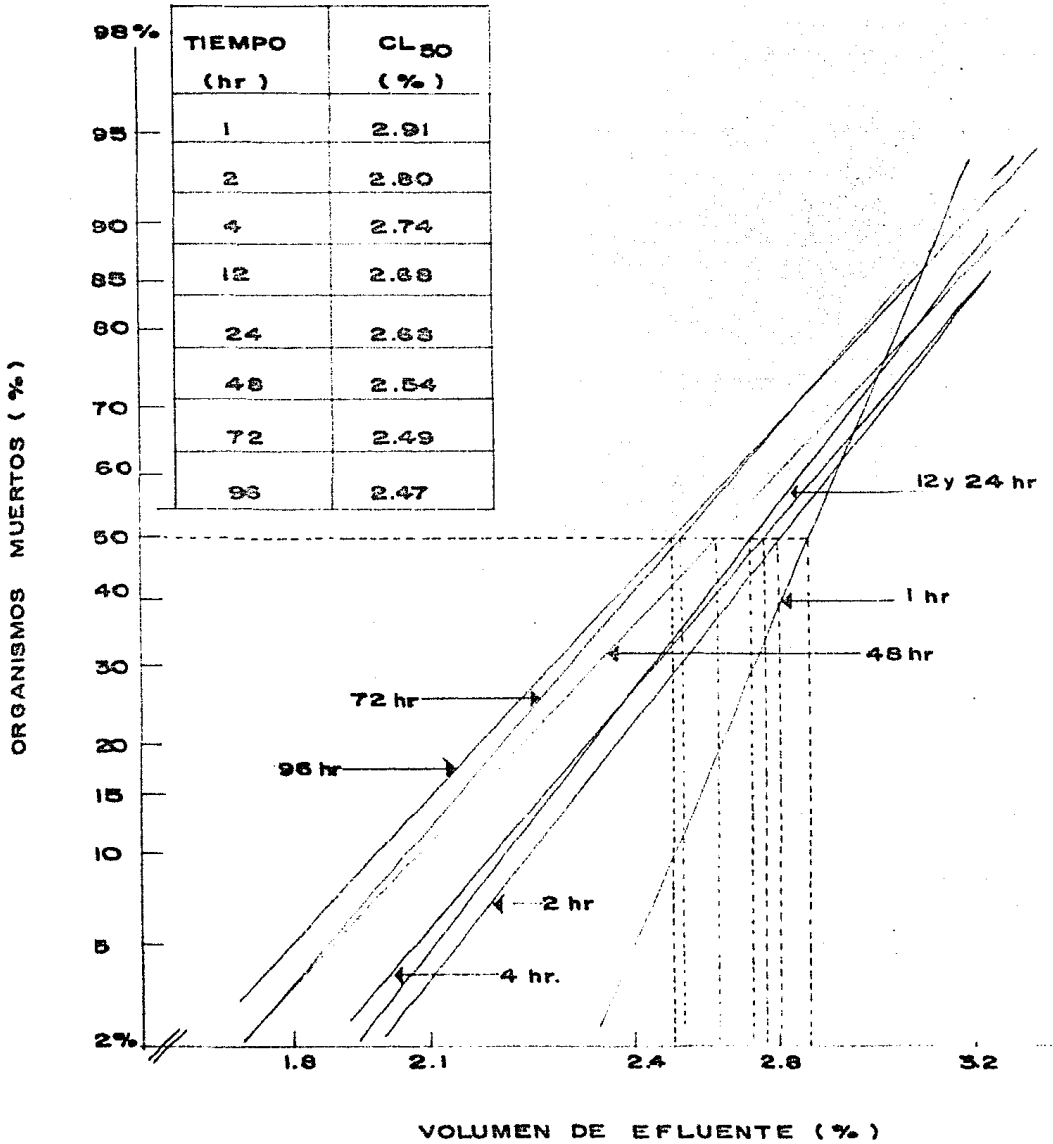


Fig. 2. Valores de las concentraciones letales medias (CL50) estimados para 1, 2, 4, 12, 24, 48, 72 y 96 hr con el efluente de Guanos y Fertilizantes de Mexico.

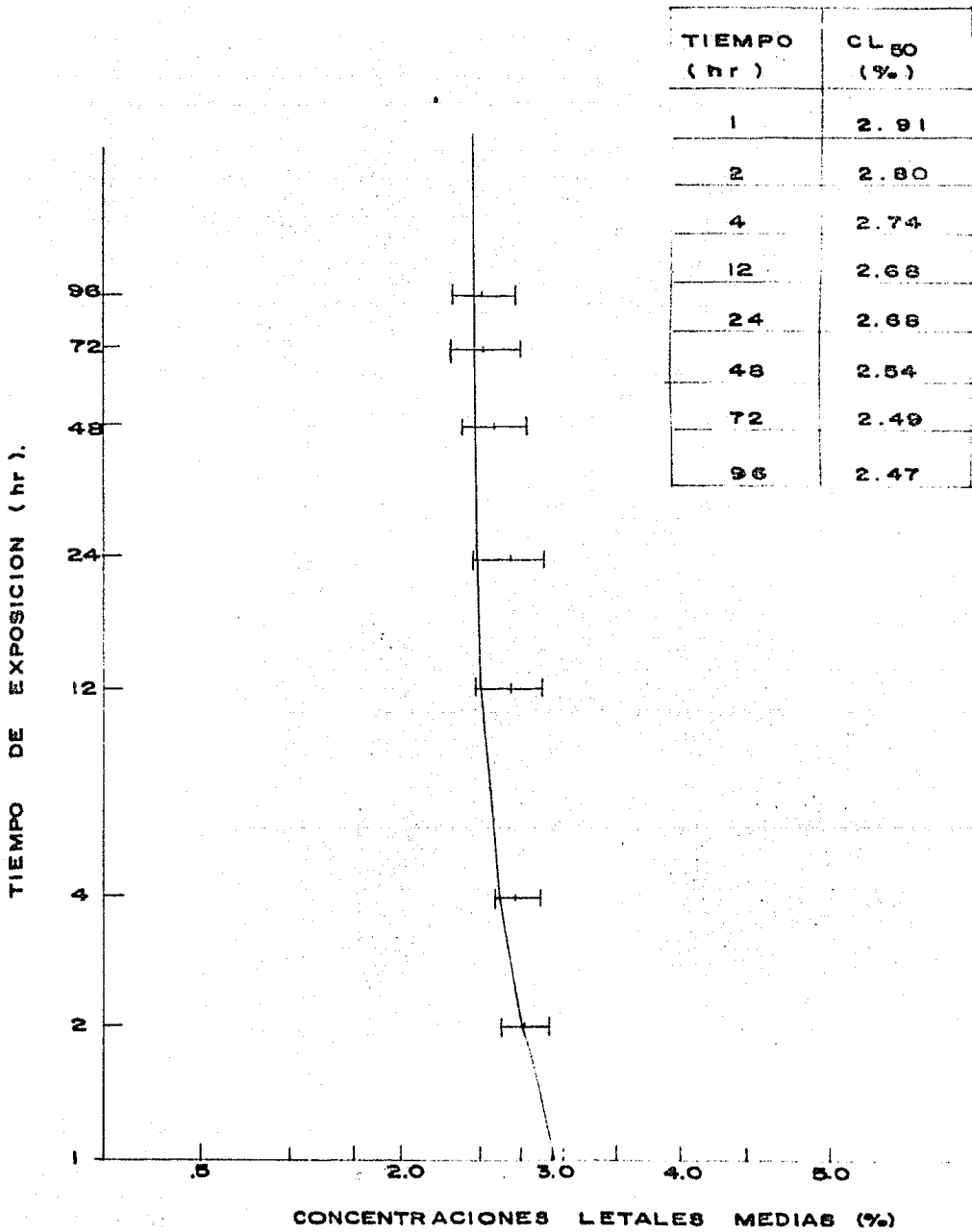


Fig. 3 Curva de toxicidad para el efluente de FERTIMEX.

TABLA XIII. Valores promedio y desviación estándar de los parámetros registrados durante el bioensayo - formal con FERTIMEX.

Conc. (%)	O.D. (mg/l)	pH	temperatura (°C)	alcalinidad total (mg/l)	dureza total (mg/l)	Conductividad (μ mhos/cm)
Testigos	5.6±0.4	7.9±0.1	21.5±0.5	75.0±2.5	88.2±6.4	176.3±5.3
1.8	5.2±0.5	8.8±0.1	21.5±0.5	79.1±5.9	82.3±7.3	280.1±6.1
2.1	5.2±0.4	8.9±0.1	21.5±0.5	81.6±6.3	85.3±10.8	385.4±7.6
2.4	5.1±0.4	8.9±0.1	21.5±0.5	89.1±10.1	84.2±10.4	312.2±6.8
2.8	5.2±0.4	9.0±0.1	21.5±0.5	89.8±7.3	83.8±10.1	335.2±8.7
3.2	4.9±0.6	9.1±0.1	21.5±0.5	103.0±3.8	90.2±7.0	359.8±10.5

TABLA XIV. Valores promedio y desviación estándar de los pesos y longitudes totales de todos los peces utilizados en el bioensayo formal con FERTIMEX.

No. de org. utilizados	concentración (%)	org. por conc.	peso \bar{x} (g)	longitud \bar{x} (cm)	relación p/v (g/l)
180*	testigo	10	0.75±0.17	3.96±0.21	0.30
	réplica	10	0.80±0.10	4.0±0.18	0.32
peso \bar{x} poblacional (g)	1.8	10	0.78±0.15	3.96±0.23	0.31
	réplica	10	0.82±0.15	4.0±0.22	0.33
0.81 0.13	2.1	10	0.75±0.18	4.02±0.31	0.30
longitud \bar{x} poblacional (cm)	réplica	10	0.81±0.20	4.01±0.22	0.32
	2.4	10	0.81±0.14	3.96±0.22	0.32
4.0 0.22	réplica	10	0.81±0.13	4.06±0.23	0.32
	2.8	10	0.78±0.12	3.98±0.20	0.31
vol. de sol. de prueba (l)	réplica	10	0.78±0.12	3.97±0.25	0.31
	3.2	10	0.85±0.09	4.05±0.20	0.34
25	réplica	10	0.86±0.15	4.06±0.24	0.34

* Tomando en cuenta al bioensayo exploratorio y al formal.

0.13 g., una longitud de 4.0 ± 0.22 cm. y la relación peso/volumen, cumplió con los requisitos para las características de la prueba, como puede observarse en la tabla XIV.

Los síntomas observados antes que ocurriera la muerte fueron un nado errático con hiperventilación, aceleración de movimientos operculares con hemorragia posterior e incremento en el tamaño de los ojos. Como se mencionó en las características del efluente, los parámetros involucrados en este efecto podrían ser: fierro, níquel, cobre, zinc, fenoles, amoniaco y detergentes.

El modo de acción del cobre sobre los peces no es claro, pero en concentraciones letales agudas se sabe que daña las branquias, puede afectar procesos celulares y la actividad enzimática, causar desórdenes en hígado y riñón en mayores tiempos de exposición (Alabaster y Lloyd, op. cit.).

Uno de los principales efectos de los detergentes del tipo A. B.S. sobre los peces, es el daño que causan a las estructuras de las branquias, es decir, a los rastrillos y lamelas (Cairns et. al., 1974).

Es importante señalar que la cantidad de NH_3 encontrado en 100% de concentración de este desecho (Tabla IX), sobrepasa hasta en 8,500 veces el valor mínimo permisible de 0.025 mg/l (Tabla IV).

Existe aquí también, la posibilidad de efectos sinérgicos o antagonicos entre los componentes individuales, considerando los antes mencionados en la Refinería. Así se muestra en gran medida la utilidad de estas pruebas, ya que como lo ha mencionado Henderson (1957): "La toxicidad de los desechos complejos no puede atribuirse a un componente simple, aún cuando se conociera su mínimo nivel letal ya que después de mezclado, muchas veces producen efectos diferentes de aquéllos que presentan los componentes individuales".

El efluente de FERTIMEX al igual que el de la Refinería presenta una toxicidad muy marcada y con substancias que pueden persistir por períodos significativos en el flujo de las aguas naturales. Es

tos hechos enfatizan la necesidad para el tratamiento de este tipo de desechos antes de ser introducidos en los cuerpos receptores.

4.3. Bioensayo para la papelera Loreto y Peña Pobre.

La prueba exploratoria, no mostró un rango bien definido para la prueba formal, obteniéndose únicamente 4 individuos muertos, e equivalentes al 40% del total de la población expuesta en una concentración del 100% del efluente. Aún así, se corrió la prueba formal entre el rango de concentraciones de 50 y 100%. Las características fisicoquímicas en la prueba exploratoria (Tabla XV), mostraron que se tiene buenos niveles de oxígeno disuelto en casi todas las concentraciones, pH's alcalinos acentuándose más en las concentraciones más altas. Los niveles de dureza y alcalinidad fueron adecuados en todos los acuarios.

Las concentraciones seleccionadas para la prueba formal, fueron 56, 65, 75, 87, y 100% de desecho. Para un período de 96 hrs. no fue posible determinar un CL_{50} , por lo tanto dentro de este período no se demostró algún efecto tóxico agudo.

La tabla XVI, muestra los parámetros fisicoquímicos de la prueba formal, en la que se observa que los niveles de oxígeno disuelto presentaron disminuciones desde la concentración de 75% de volumen de desecho, la prueba se realizó sin aereación, descontrolándose este decaimiento. El pH fue alcalino en todos los acuarios y no se presentaron variaciones importantes. Con dureza y alcalinidad media y temperatura constante en 21°C con variaciones de 1°C.

Los organismos tuvieron un peso promedio de 0.75 ± 0.15 g. y una longitud de 3.74 ± 0.4 cm. La relación peso/volumen en los acuarios, fue aproximadamente 0.3 g. por cada litro de agua y el volumen de prueba fue de 25 l. (Tabla XVII).

Las características del desecho presentadas en la tabla XVIII, muestran que presenta problemas con respecto al pH, fosfatos, fenoles, fierro, zinc y amoníaco y en menor cantidad los sólidos. Estos quizá influyeron en la escasa mortandad presentada existiendo -

TABLA XV.

Caracterización de parámetros fisicoquímicos a lo largo del bioensayo exploratorio con el efluente de la papelera y sus correspondientes valores de mortandad.

Conc. (% en vol.)	No. de organismos expuestos.	No. de org. muertos a las 24 hrs.	PARAMETROS FISICOQUIMICOS											
			Oxígeno Disuelto (mg/l)		pH		Alcalinidad total (CaCO ₃ , mg/l)		Dureza total (CaCO ₃ , mg/l)		Temperatura (°C)		Conductividad (µmhos/cm)	
			0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.	0 hrs.	24 hrs.
Testigo	5	0	5.6	4.4	8.0	7.9	80	78	74.9	70.5	21	21	170	165
Réplica	5	0	5.4	4.6	8.0	7.9	82	80	83.8	74.9	21	21	165	160
0.01	5	0	6.0	4.4	8.1	8.0	86	84	83.8	74.9	21	21	170	165
Réplica	5	0	5.6	4.2	8.2	8.0	86	84	83.8	79.4	21	21	168	164
1.0	5	0	5.3	4.2	8.3	8.2	84	86	97.0	83.8	21	21	170	168
Réplica	5	0	5.3	4.0	8.3	8.2	88	88	92.6	88.2	21	21	170	166
10.0	5	0	5.1	4.0	8.9	8.7	88	86	97.0	88.2	21	21	195	190
Réplica	5	0	5.3	3.8	8.9	8.9	90	88	101.5	83.8	21	21	195	188
50.0	5	0	4.8	3.8	9.6	9.2	92	88	97.0	105.8	21	21	375	370
Réplica	5	0	4.1	3.6	9.6	9.3	92	88	110.2	101.4	21	21	370	368
100.0	5	2	3.6	3.0	10.0	9.7	118	116	136.7	127.9	21	21	700	690
Réplica	5	2	3.8	3.0	10.0	9.8	120	118	136.7	132.3	21	21	700	690

TABLA XVI. Valores promedio y desviación estándar de los parámetros registrados durante el bioensayo - formal con la Papelera Loreto y Peña Pobre.

Conc. (%)	O.D. (mg/l)	pH	temperatura (°C)	alcalinidad total (mg/l)	dureza total (mg/l)	conductividad (µmhos/cm)
Testigos	5.2±0.5	8.0±0.1	21.0±1.0	75.5±2.1	87.1±6.8	168.0±3.0
56	4.4±0.4	8.9±0.1	21.0±1.0	96.0±4.9	95.0±5.2	413.0±4.0
65	4.2±0.3	9.0±0.1	21.0±1.0	102.0±7.6	104.6±7.0	451.0±10.0
75	4.1±0.4	9.0±0.1	21.0±1.0	104.3±9.5	115.7±5.8	576.0±15.0
87	4.1±0.6	9.1±0.1	21.0±1.0	113.3±7.6	127.1±4.1	644.0±17.0
100	3.9±0.6	9.2±0.1	21.0±1.0	120.0±8.9	139.3±7.0	692.0±10.0

TABLA XVII. Valores promedio y desviación estándar de los pesos y longitudes totales de todos los peces utilizados en el bioensayo formal con la Papelera.

No. de org. utilizados	concentración (%)	org. por conc.	peso \bar{x} (g)	longitud \bar{x} (cm)	relación p/v (g/l)
180*	testigo	10	0.70±0.2	3.69±0.3	0.28
	réplica	10	0.78±0.13	3.71±0.3	0.31
peso \bar{x} poblacional (g)	56.0	10	0.80±0.2	3.87±0.4	0.32
	réplica	10	0.79±0.2	3.75±0.2	0.31
0.75 0.15	65.0	10	0.64±0.13	3.66±0.2	0.26
	réplica	10	0.75±0.14	3.74±0.2	0.30
longitud \bar{x} poblacional (cm)	75.0	10	0.74±0.20	3.82±0.2	0.29
	réplica	10	0.78±0.14	3.78±0.2	0.31
3.74 0.4	87.0	10	0.78±0.20	3.80±0.3	0.31
	réplica	10	0.73±0.10	3.73±0.3	0.29
vol. de sol. de prueba (l)	100.0	10	0.76±0.13	3.81±0.3	0.30
	réplica	10	0.73±0.20	3.78±0.3	0.29
25					

* Tomando en cuenta el bioensayo exploratorio y formal.

TABLA XVIII. Valores de los parámetros fisicoquímicos determinados en el efluente de la Papelera al 100% de concentración, a las 0, 24 y 96 hrs. de su colecta y su porcentaje de disminución.

PARAMETRO (mg/l)	CON AEREACION				SIN AEREACION			
	0 hrs.	24 hrs.	96 hrs.	% ^a	0 hrs.	24 hrs.	96 hrs.	% ^a
Alcalinidad total, CaCO ₃	118	116	104	11.9	120	118	112	6.6
Dureza total, CaCO ₃	136.7	127.9	127.9	6.4	136.7	136.7	132.3	3.2
Temperatura (° C)	21	21	21	0.0	21	21	21	0.0
pH	10.1	10	9.1	9.9	10.1	9.8	9.0	11.0
Oxígeno disuelto	3.6	4.4	4.3	0.0	3.6	0.0	0.0	100
Conductividad **	700	700	700	0.0	700	700	700	0.0
DBO ₅	117.0	74.0	54.0	54.0	91.0	69.0	57.0	37.3
DQO	207	180	137	33.8	190	162	153	19.5
Grasas y aceites	50.0	37.0	10.0	80.0	44.0	44.0	19.0	57.0
Sulfatos	193.0	193.0	212.0	0.0	199.0	194.0	212.0	0.0
Fósforo (PO ₄)	2.8	1.16	1.4	50.0	2.8	1.2	1.6	41.4
N - (NO ₂)	0.005	0.005	0.004	20.0	0.004	0.004	0.004	0.0
N - (NO ₃)	0.21	0.21	0.21	0.0	0.21	0.21	0.24	0.0
N - (NH ₃)	158	0.46	<0.05	97.0	1.52	<0.05	<0.05	97.0
Sólidos totales	776	660	790	0.0	718	604	766	0.0
Sólidos suspendidos	185	80	150	19.0	188	60	70	63.0
Detergentes (SAAM)	1.8	1.8	0.62	65.9	2.43	1.8	0.67	62.7
Fenoles	0.015	0.013	0.011	26.6	0.015	0.013	0.012	26.6
Fluoruros	1.07	1.0	0.96	10.3	1.13	1.05	1.08	4.4
Boro	0.17	0.14	0.14	17.6	0.23	0.14	0.15	34.8
Arsénico	<.001	<.001	<.001	0.0	<.001	<.001	<.001	0.0
Cianuro	<.001	<.001	<.001	0.0	<.001	<.001	<.001	0.0
Cromo, Cr ⁺⁶	<.01	<.01	<.01	0.0	<.01	<.01	<.01	0.0
Mercurio	<.0005	<.0005	<.0005	0.0	<.0005	<.0005	<.0005	0.0
Plomo	0.015	0.015	0.019	0.0	.0032	.0032	.0039	0.0
Fierro	0.67	0.37	0.92	0.0	0.52	0.24	0.34	34.6
Níquel	<0.1	<0.1	<0.1	0.0	<0.1	<0.1	<0.1	0.0
Cobre	<0.05	<0.05	<0.05	0.0	<0.05	<0.05	<0.05	0.0
Zinc	0.17	0.13	0.24	0.0	0.11	0.09	0.07	36.4

a = porcentaje de disminución de 0 a 96 hrs.

< = menor al mínimo detectable

** (µmhos/cm.)

la posibilidad de incrementarse a mayores tiempos de exposición.

Los parámetros no persistentes en el desecho durante 96 hrs. fueron las grasas y aceites, fosfatos, detergentes y nitrógeno - amoniacal, los cuales si lo fueron en un período de 24 hrs., por lo que la renovación continua en este lapso, restablece en gran medida las condiciones originales (Tabla XVIII).

El acuario aerado mantiene buenos niveles de oxígeno, degrada más rápido la materia orgánica y mantiene los sólidos suspendidos. El no aerado consume el oxígeno disuelto en 24 hrs., retarda la degradación orgánica y sedimenta los sólidos suspendidos. En las dos condiciones se registraron cambios importantes de pH - disminuyendo hasta en una unidad en 96 hrs., lo cual no ocurre en un período de 24 hrs.

4.4. Sensibilidad de la especie de prueba.

Es sabido (Buikema,op.cit.) que al comparar los CL_{50} para diferentes desechos con la misma especie, es factible obtener información sobre la sensibilidad de la misma a éstos. Así, el menor nivel de CL_{50} proporciona un índice de una mayor sensibilidad a este desecho. Sin embargo, este hecho quedaría en la simplicidad, si no se comparara también las condiciones de prueba y la de los organismos. Las condiciones de prueba, las consideramos relativamente semejantes, ya que es utilizado un mecanismo de evaluación estándar realizado por las mismas personas y no fue posible evaluar diferencias en la sistematización por el método propuesto por Sprague (1969) de tóxicos de referencia. Este método consiste en la realización de el bioensayo de la sustancia o desecho a evaluar conjuntamente con una sustancia patrón o de referencia, de tal forma que se comparan los resultados obtenidos con esta última en cada bioensayo realizado.

Lo que si fue posible comparar, es la heterogeneidad de los organismos de prueba respecto a sus condiciones de peso y longitud. Por lo demás, suponemos que provienen de las mismas condiciones, ya que fueron obtenidos de la misma fuente. La comparamen-

ción es hecha, debido a que muchas veces la sensibilidad de una especie puede variar según su talla, edad, estado de vida, estado reproductivo, etc. (Buikema op. cit.).

El análisis gráfico de distribución de frecuencias polimodales utilizando el papel probabilidad, mostró que el grupo de individuos utilizados en cada bioensayo en particular, fueron un grupo homogéneo distribuyéndose sus poblaciones normalmente, de tal forma que se obtiene una línea recta al graficar la longitud o el peso v.s. su frecuencia acumulada; se presenta como ejemplo la población de FERTIMEX en la fig. 4. Por otro lado, la comparación de estas poblaciones mediante la prueba de t de Student determinó que existen entre ellas diferencias significativas ($P < 0.05$) tanto en peso como en longitud.

La población utilizada en la Refinería, resultó ser más pequeña por lo que su sensibilidad se vio afectada quizá por su menor peso y longitud. Debe tenerse en cuenta que esta diferencia, no se debe a que se evaluaron a grupos de años dominantes sino a grupos de edades sucesivas, por lo que es muy difícil establecer si las discrepancias en longitud y peso de un grupo y otro, influyeron en la sensibilidad hacia los desechos; en todo caso habrían que hacerse pruebas simultáneas con las tres tallas de organismos e industrias para comprobarlo lo cual es muy difícil.

Por otra parte, se ha mencionado que un requisito para la distribución de los organismos experimentales en los acuarios, es que el individuo más grande no debe exceder 1.5 veces más que el de menor talla, debido a que fuera de este rango, los individuos pueden responder de forma diferente (Doudoroff, op. cit.). Por lo que si consideramos este criterio respecto a los promedios de longitud, observamos que de ninguna forma el pez de FERTIMEX, fue 1.5 veces más grande que el de la Refinería. Es decir, el pez promedio para la Refinería tiene una longitud de 2.12 ± 0.3 cm. (Tabla VIII), y el pez promedio de FERTIMEX es de 4.0 ± 0.22 cm. (Tabla XIV), pudiendo pensarse entonces que su respuesta podría ser similar. Por lo antes mencionado se puede decir que la especie de prueba fue más sensible al desecho de la Refinería (96 hrs. - $CL_{50} = 0.044\%$)

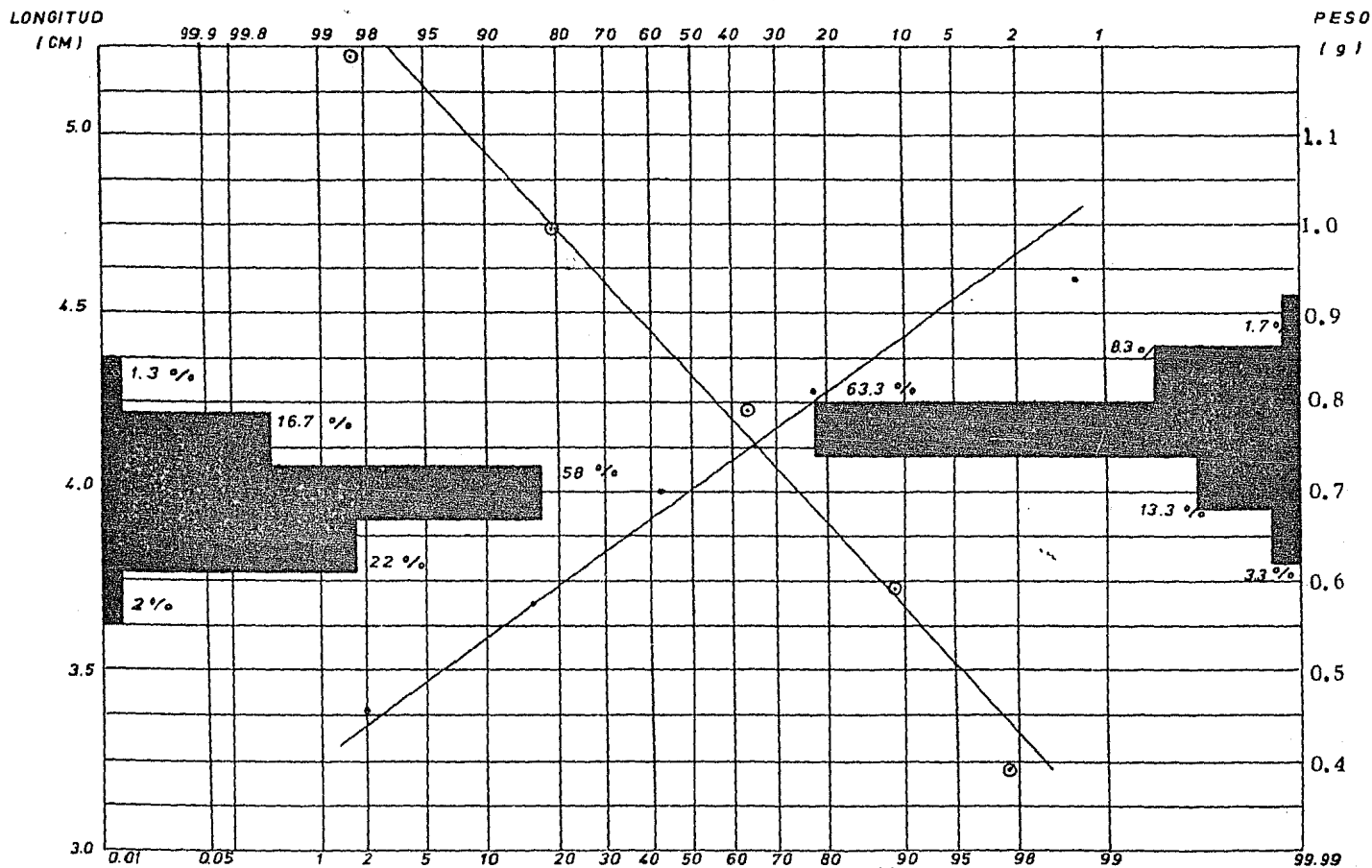


FIG. 4 DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS ACUMULADAS PARA PESO (○) Y LONGITUD (•) DE LA POBLACION DE ORGANISMOS UTILIZADOS EN EL BIOENSAYO CON FERTIMEX.

que al de FERTIMEX (96 hrs. - $CL_{50} = 2.53\%$), y por lo tanto aquél es más tóxico, pero que sin embargo, esta diferencia pudo deberse a las diferencias en longitud y peso de los organismos utilizados para cada industria.

4.5. Derivación de la concentración segura.

Los resultados obtenidos en la prueba de toxicidad aguda resultan ser índices de gran utilidad acerca de las implicaciones ecológicas sobre la introducción de las sustancias en el ambiente, pero no representan las concentraciones que se pueden considerar como seguras o inocuas a los habitats expuestos a la contaminación (A.P.H.A., 1976). Esto es debido a que las concentraciones de compuestos o desechos que no se demuestre que sean tóxicas dentro de las primeras 96 hrs. de exposición, pueden serlo en una exposición continua, sobre todo, en aquéllas sustancias que tienen un tiempo mayor de residencia en el ambiente, y por ende pueden presentarse en niveles crónicos subletales y posiblemente letales (E.I.F.A.C., op. cit.). Resulta necesario por lo tanto, mucha mayor informa -- ción para la determinación de la peligrosidad de este tipo de substancias. Se requerirá primero, obtener la concentración letal aguda y posteriormente menores concentraciones, las cuales puedan oca sionar deterioros importantes en lapsos prolongados de exposición.

Teóricamente, las concentraciones permisibles o niveles seguros de los desechos para sus cuerpos receptores, son aquéllas, que pueden ser toleradas indefinidamente por todos o un seleccionado -- grupo de organismos presentes. Las concentraciones seguras, niveles seguros, o la máxima cantidad aceptable de tóxico (M.C.A.T.), han sido determinadas para algunas sustancias, por medio de bioensayos de períodos largos utilizando el ciclo de vida parcial de uno o varios organismos en sus estados de vida más sensitivos, o con su ciclo de vida completo, obteniendo un rango de concentraciones del tóxico bajo prueba, que no causa daño a los organismos experimentales en ninguna etapa de desarrollo (Sprague, 1971).

El determinar las concentraciones seguras por estos medios, -- sería un trabajo interminable y de difícil realización. Sin embar

go, el cálculo de una concentración segura, puede ser extrapolado por medio de los llamados factores de aplicación, los cuales, son usados para reducir en primer instancia los valores umbrales o las concentraciones letales medias (U.S.E.P.A., op. cit.).

Sprague, op. cit., establece, que la utilización de factores de aplicación tiene valor, dado que se basan en datos experimentales en cuanto a la relación que existe entre la máxima concentración aceptable de tóxico o niveles seguros y los niveles letales. Sin embargo, puntualiza que el desconocimiento de tal información, hace que muchas veces sean considerados como arbitrarios.

Han sido estimados factores de aplicación (National Academy of Sciences & National Academy of Engineering, 1973) para las diversas sustancias con base en la relación mencionada la cual se - representa como:

$$\frac{MCAT}{CL_{50} \text{ incipiente}} = \text{Factor de Aplicación (FA)}$$

Los factores de aplicación obtenidos y que han sido sugeridos, varían de 0.1 a 0.0001, siendo los valores más conservadores (los más pequeños) aplicables a sustancias persistentes o bioacumulables.

Es entonces, que multiplicando el CL_{50} incipiente o umbral o el 96 hrs. - CL_{50} por un factor de aplicación tal como 0.1, se podrá extrapolar una concentración, que no ocasionará efectos subletales o crónicos.

Si consideramos los resultados obtenidos en la presente investigación para determinar las correspondientes concentraciones seguras, el resultado sería:
para la Refinería:

$$96 \text{ hrs. - } CL_{50} = 0.044\%$$

$$FA = 0.1$$

entonces: $CS = 0.044 \times 0.1 = 0.0044\%$

para FERTIMEX:

$$CL_{50} \text{ incipiente} = 2.5\%$$

$$FA = 0.1$$

entonces

$$CS = 2.5 \times 0.1 = 0.25\%$$

De esto, puede observarse que los volúmenes de dilución requeridos para alcanzar la concentración segura o límite permisible de descarga, serían muy elevados debido a la gran toxicidad de los efluentes. La otra alternativa, es modificar el valor de CL_{50} , ya sea por un control sobre un paso específico del procedimiento de flujo de la industria que genere sustancias de alta toxicidad (que serían identificadas por pruebas de bioensayos), o por medio de un tratamiento de la totalidad del efluente.

La cantidad de tratamiento a efectuar, también puede elucidarse mediante bioensayos, permitiendo con esto que la industria cumpla con los requisitos de protección al ambiente. Por otro lado, un tratamiento a la descarga permitirá la recirculación y/o el reúso del agua y en la mayoría de los casos, disminuirán los costos de producción.

Henderson y Tarzwell (1957) entre otros, recomiendan el uso de los factores de aplicación tomando en cuenta las siguientes consideraciones:

- 1) Dado que el CL_{50} determina únicamente la mortandad del 50% de la población expuesta a un tóxico en períodos cortos, y lo que se pretende en la determinación de una concentración segura, es la sobrevivencia del 100% de la población en una exposición continua, entonces el uso de un factor de aplicación puede compensar estas diferencias.
- 2) Debido a que es sumamente difícil determinar y utilizar dentro de un cuerpo de agua la especie más sensible y su estado de vida más sensitivo, entonces el uso de estos factores permiten abarcar un rango mayor de sensibilidades a partir de alguna especie seleccionada.

- 3) Los efluentes industriales en la mayoría de los casos son altamente variables en volumen y toxicidad, por lo tanto, cuando no se realizan muestreos exhaustivos la toxicidad máxima y la contribución total de materiales tóxicos muchas veces no son evaluados completamente. Así pues, un factor de aplicación puede abarcar esta variabilidad.
- 4) El agua receptora está sujeta a cambios fisicoquímicos -- cuantitativos, resultado de cambios temporales o cambios que están en función de la variación de la contaminación, por lo que un factor de aplicación utilizado sobre una -- concentración letal media permite obtener un mayor rango de seguridad.

Que los factores de aplicación solucionen igual de bien estas consideraciones es muchas veces dudoso (Buikema op. cit.). Por lo que el uso de los factores de aplicación recomendado, puede o no tener validez, sin embargo, es nuestro primer recurso para predecir niveles seguros de descarga, los cuales tendrán que considerarse con carácter preliminar. Resulta claro también, que los niveles seguros serán mejor determinados si se realizan las pruebas con el organismo más sensible del cuerpo receptor de los desechos y aún mejor, si se llevan a cabo con organismos representantes del estrato inferior medio y superior de la cadena trófica existente, tal como un alga, un invertebrado y un pez.

Es así, que los bioensayos de toxicidad aguda conforman un criterio objetivo para la identificación, control y vigilancia e las fuentes de contaminación del agua. Por otra parte, la aplicación de éstas pruebas, según Brungs y Mount (1978) y Macek et. al., 1978 han sido estimadas como ecológicamente significativas, defensibles y por lo tanto de gran utilidad, además de ser consideradas por -- Brungs (1973), Cairns y Dickson (1978) y Peltier (1978) como el primer paso para establecer límites con fines preventivos, así como para determinar cuales de ellas son más peligrosas para los cuerpos -- receptores.

5. CONCLUSIONES.

1. Los datos presentados señalan que los efluentes de la Refinería de Azcapotzalco como el de FERTIMEX, se consideren de alta -- toxicidad. La papelera no presentó toxicidad demostrable en 96 hrs. bajo las condiciones de prueba.

2. La Refinería es capaz de afectar mortalmente a la especie utilizada en 96 hrs. de exposición, en un rango de concentración de - 0.03 y 0.06% de volumen de desecho, existiendo la posibilidad de obtener concentraciones menores extendiendo la duración de la prueba. - FERTIMEX presentó un umbral de toxicidad cercano a 2.5% de volumen - de desecho. Por consiguiente, ambos tipos de efluentes necesitarían grandes volúmenes de dilución y más convenientemente un tratamiento de sus descargas.

3. Se encontró que Cyprinus carpio fue más sensible a la Refinería que a FERTIMEX. Sin embargo, esta diferencia en sensibilidad pudo deberse al menor peso y longitud de los individuos utilizados - en el bioensayo con la Refinería.

4. Dada la complejidad de los desechos, no es posible atribuir la toxicidad a un componente en particular.

5. El método de renovación cada 24 hrs. permite una mejor exposición continua a la mayor parte de los componentes del desecho.

6. La especie de pez utilizada fue conveniente para el tipo de prueba, en la que se ejerce un stress adicional al cambiar a los organismos cada 24 hrs. a soluciones nuevas.

7. Existió poca variación en los resultados obtenidos por el método de análisis gráfico de Litchfield y Wilcoxon y el análisis "Probit" por computadora, por lo que el primero es recomendado para este tipo de estudios, ya que requiere poco tiempo, es económico y no resta precisión.

8. Se encontró poca variación entre los valores de CL_{50} determinados para las réplicas de cada experimento, lo que indica la reproducibilidad del procedimiento empleado.

9. Se recomienda utilizar a los factores de aplicación en la obtención de las concentraciones seguras para los efluentes industriales, pero éstas deben considerarse con carácter preliminar, hasta que pueda contarse con investigaciones más exhaustivas tanto de campo como de laboratorio.

10. La toxicidad precisa de los efluentes industriales, no puede ser predicha solamente mediante análisis químicos, por lo que los bioensayos son una herramienta potencial para tal objeto. Además, pueden contribuir a conformar los mecanismos técnicos y legales que permitan la identificación y control de las fuentes directas de sustancias que deterioran el ambiente acuático y por ende la calidad del agua.

A P E N D I C E

Método abreviado de Litchfield y Wilcoxon para la determinación del CL₅₀
(Litchfield y Wilcoxon, 1949).

Procedimiento general.

Los pasos siguientes obtendrán el CL₅₀ para un solo período de exposición, por lo tanto, es necesario seguirlos para p. ej. 24, 48, 72 hrs., etc.

1. Se tabulan los siguientes datos: las concentraciones de efluente utilizadas, el número de organismos expuestos a cada una de ellas, el número de organismos muertos y su porcentaje observado. No listar más de 2 consecutivos 100% de efecto en las concentraciones más altas, o más de 2 consecutivos 0% de afección en las concentraciones más bajas.

2. Se grafica el porcentaje de organismos afectados observados contra el porcentaje de volumen de efluente sobre papel probabilidad-logarítmico de 2 ciclos (% de mortandad en la escala probabilística y el % de volumen de efluente en la escala logarítmica), excepto los valores de 0 y 100% de mortandad. Se traza una recta a través de los puntos, particularmente aquéllos de la región del 40 al 60% de afección.

3. En base a la línea trazada a través de los puntos, se leen y enlistan los porcentajes esperados de afección para cada concentración probada. No se toman en cuenta los valores de los porcentajes esperados menores de 0.01 o mayores de 99.99.

Utilizando la Tabla I, se calcula el valor corregido de 0 y 100% de efecto observado obtenido en la prueba. El uso de esta Tabla, requiere considerar a los valores esperados de afección de 0 y 100%, calculados en el párrafo anterior. De la primera columna vertical de esta Tabla, se localizan las decenas del valor esperado de mortandad y de la primera columna horizontal, la correspondiente unidad. En el cruce de estas dos columnas estará el valor corregido de 0 ó 100% de afección según sea el caso. Ya que los valores esperados en la tabla son números enteros, será necesario obtener valores intermedios por interpolación. Se grafican estos dos valores (0 y 100% corregidos) sobre el papel probabilidad-logarítmico usado en el paso 2 y se comparan con el ajuste de la línea de los -

TABLA I. VALORES CORREGIDOS DE 0% O 100% DE EFECTO.

Valor Esperado	VALOR CORREGIDO									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		0.3	0.7	1.0	1.3	1.6	2.0	2.3	2.6	2.9
10	3.2	3.5	3.8	4.1	4.4	4.7	4.9	5.2	5.5	5.7
20	6.0	6.2	6.5	6.7	7.0	7.2	7.4	7.0	7.8	8.1
30	8.3	8.4	8.6	8.8	9.0	9.2	9.3	9.4	9.6	9.
40	9.0	10.0	10.1	10.2	10.3	10.4	10.4	10.4	10.4	10.5
50		89.5	89.6	89.6	89.6	89.7	89.7	89.8	89.9	90.0
60	90.1	90.2	90.4	90.5	90.7	90.8	91.0	91.2	91.4	91.6
70	91.7	91.9	92.2	92.4	92.6	92.8	93.0	93.3	93.5	93.8
80	94.0	94.3	94.5	94.8	95.1	95.3	95.6	95.9	96.2	96.5
90	96.8	97.1	97.4	97.7	98.0	98.4	98.7	99.0	99.3	99.7

TABLA II. VALORES DE CHI² (P=0.05)

GRADOS DE LIBERTAD (N)	CHI ²
1	3.84
2	5.99
3	7.82
4	9.49
5	11.1
6	12.6
7	14.1
8	15.5
9	16.9
10	18.8

otros puntos. Si después de graficar los valores corregidos esperados - (que se consideran observados) para 0 y 100% de afección, el ajuste es obviamente insatisfactorio, vuelva a trazar la línea a ojo y obtenga un nuevo grupo de valores esperados.

4. Obtener y enlistar la diferencia entre cada valor observado (corregido en el caso de 0 y 100%) y su correspondiente valor esperado o teórico obtenido en el paso 3.

Determinar el valor de Chi^2 para cada conjunto de datos de la - Fig. 1. Para encontrar cada Chi^2 se utilizará cada valor de: porcentaje esperado de afección y la diferencia entre el observado menos el esperado. Estos valores se localizan en las dos primeras escalas de la Fig. 1. -- Uniendo estos dos valores de las 2 escalas por medio de una recta que se prolongará hasta la escala de Chi^2 , se obtiene el valor buscado de Chi^2 - para cada porcentaje de afección encontrado, en cada concentración utilizada.

Se suman los valores de Chi^2 determinados y el total se multiplica por el promedio de organismos utilizados en cada recipiente de prueba, es decir, el número de organismos totales entre el número de concentraciones seleccionadas. Este producto, es la Chi^2 de la línea. Se calculan los grados de libertad (N), los cuales se obtienen restando 2 al número - de concentraciones utilizadas (K).

Se calcula un valor de Chi^2 de la línea para N grados de libertad por medio de la Tabla II. Este valor así obtenido, se compara con - aquél calculado primeramente. Si el valor de la Chi^2 de la línea, obtenido de la Tabla III es menor de aquél de la Tabla II, se consideran los datos homogéneos y la línea es un buen ajuste. En el caso contrario los datos se considerarán heterogéneos y la línea no es un buen ajuste. En este caso, los datos no pueden ser usados para el cálculo del CL_{50} y por lo tanto la prueba tiene que ser repetida.

5. De la línea ajustada, se leen los porcentos de volumen de efluente para los correspondientes 16, 50 y 84% de efecto (CL_{16} , CL_{50} y CL_{84}).

Se calcula la función pendiente (S), por medio de la siguiente expresión:

$$S = \frac{(\text{CL}_{84}/\text{CL}_{50}) + (\text{CL}_{50}/\text{CL}_{16})}{2}$$

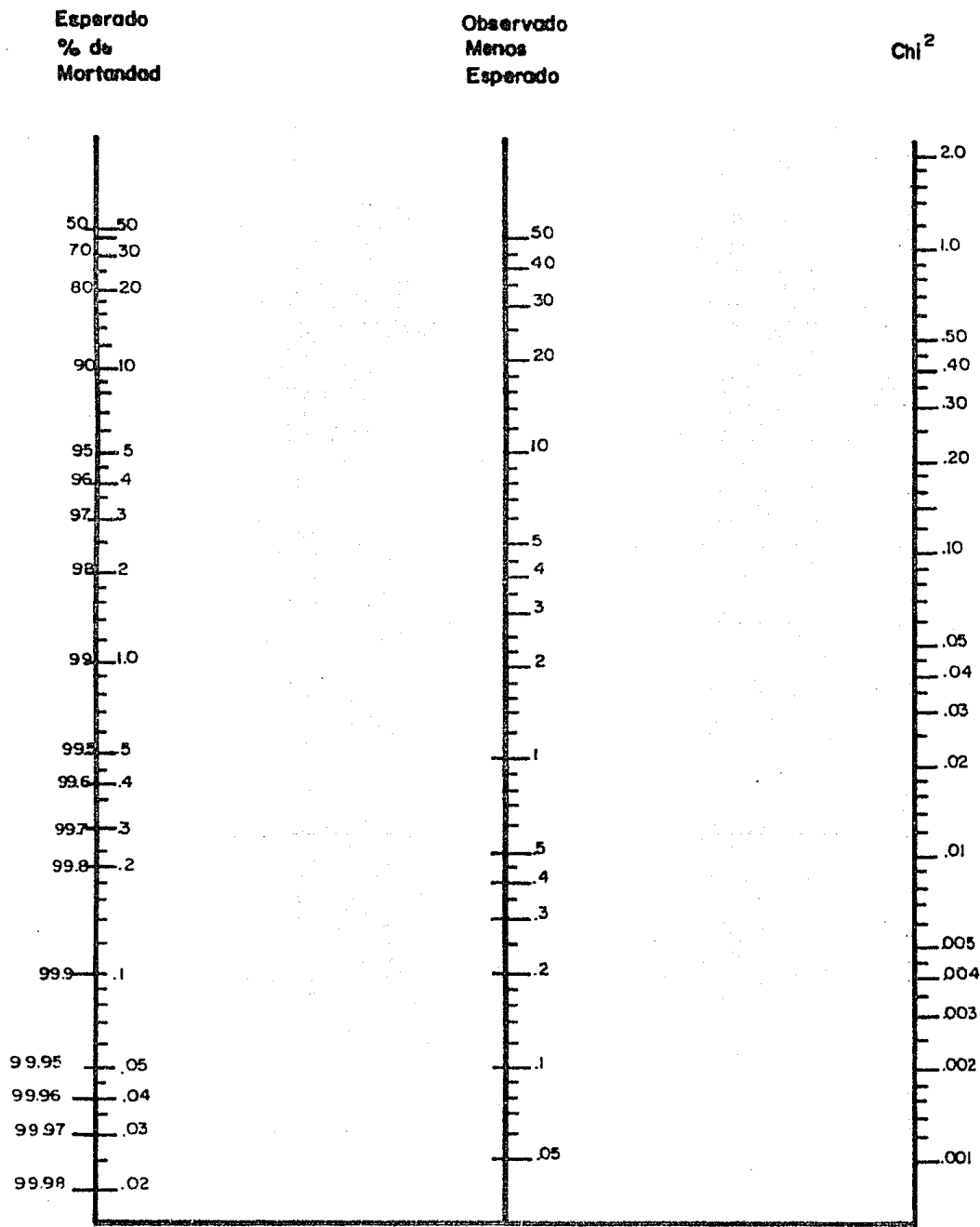


Fig. 1.- Nomograma para la obtención de Chi² del esperado porcentaje de afección y el observado menos el esperado. (Paso 4)

De la gráfica de los datos, determinar n' , la cual es definida como el número total de organismos utilizados dentro del intervalo de 16 a 84% de mortandad.

Se calcula el factor FCL_{50} que se usará para el establecimiento de los límites de confianza para el CL_{50} mediante la expresión:

$$FCL_{50} = S (2.77/\sqrt{n'})$$

Los límites de confianza son obtenidos como sigue:

- A) Límite superior para 95% de probabilidad: $CL_{50} \times FCL_{50}$
 B) Límite inferior para 95% de probabilidad: CL_{50} / FCL_{50}

Ejemplo:

La Tabla III, muestra los datos generados en el bioensayo formal para la Refinería de Azcapotzalco a las 96 hrs. de exposición. Estos fueron graficados en la Fig. 2 donde se obtuvieron los valores esperados.

TABLA III. Tabulación de los Datos Experimentales.

Pasos 1 - 4						
Concentración de efluente (%)	Nº organismos expuestos	Nº organismos muertos	% observado de organismos muertos	% esperado de mortandad	% observado menos % esperado	Chi ²
0.01	10	1	10 (0.3)*	1	0.7	0.005
0.025	10	1	10	14	4	0.013
0.05	10	6	60	46	14	0.08
0.10	10	8	80	80	0	0.0
0.50	10	10	100 (99.8)*	99.9	.1	0.001
Total:						0.099

* Paso 3, valores corregidos, obtenidos de la Tabla I.

Paso 4

Cálculo de Chi².

- a. El número promedio de organismos utilizados en K(K=5) concentraciones es $\bar{X} = 50/5 = 10$
 b. $Chi^2 = 10 \times 0.099 = 0.99$

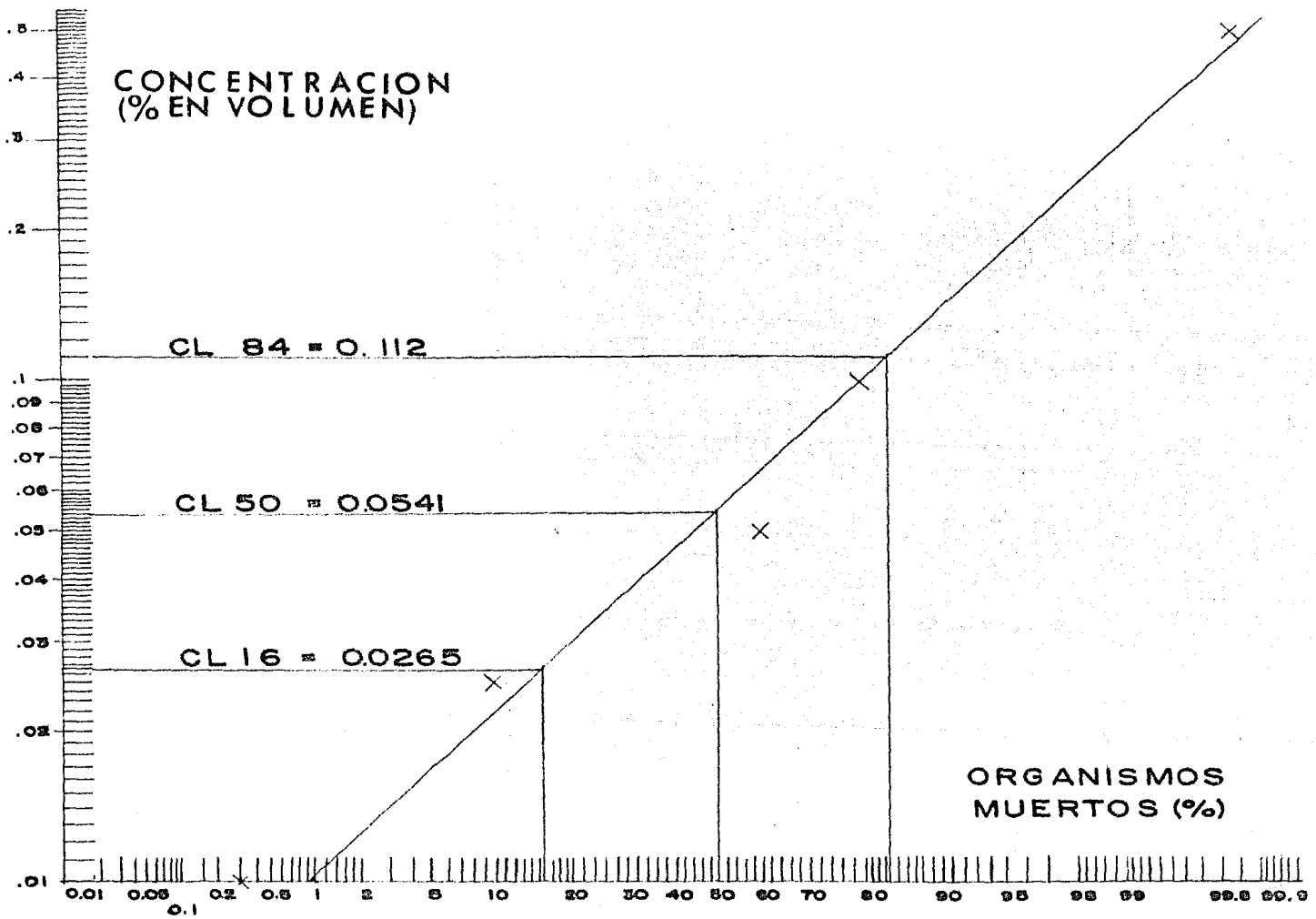


Fig. 2 Gráfica de los datos generados en el Bioensayo formal con la Refinería de Azcapotzalco a las 96 horas de exposición.

- c. Grados de libertad (N) = K - 2 = 5 - 2 = 3
- d. De la tabla II para 3 grados de libertad, Chi^2 es igual a 7.82. Los datos son homogéneos, ya que $0.99 < 7.82$, además es un buen ajuste.

Paso 5

- a. De la línea ajustada se determinó (Fig. 2):

$\text{CL}_{16} = 0.0265\%$ de volumen de efluente.

$\text{CL}_{50} = 0.0541\%$ de volumen de efluente.

$\text{CL}_{84} = 0.112\%$ de volumen de efluente.

- b. Cálculo de la función pendiente (S), con:

$$S = \frac{\text{CL}_{84}/\text{CL}_{50} + \text{CL}_{50}/\text{CL}_{16}}{2} = \frac{0.112/0.0541 + 0.0541/0.0265}{2} = 2.05$$

- c. $N' = 20$

- d. Cálculo del exponente 2.77/ N' y el factor, FCL_{50} :

$$\text{FCL}_{50} = S^{2.77/\sqrt{N'}} = 2.05^{2.77/\sqrt{20}} = 1.53$$

- e. Cálculo de los límites de confianza:

- 1) Límite superior para 95% de probabilidad:

$$0.0541 \times 1.53 = 0.082$$

- 2) Límite inferior para 95% de probabilidad:

$$0.0541 / 1.53 = 0.035$$

o sea que el valor de CL_{50} cae dentro del rango:

$$0.035 - 0.082\%$$

6. BIBLIOGRAFIA.

1. Alabaster, J.S. (1970). Testing the toxicity of effluents to fish. Chem. Ind: 759-764.
2. Alabaster, J.S., Lloyd, R. (1980). Water quality criteria for freshwater fish. Butterworth & Co. Publishers Ltd. London. 297 p.
3. A.P.H.A. (1976). Standard methods for the examination of water and wastewater. 14th edition. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. Washington, D.C. 1193 p.
4. A.P.H.A. (1980). Standard methods for the examination of water and wastewater. 16th edition. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. Washington, D.C. 1134 p.
5. Arrignon, J. (1979). Ecología y piscicultura de aguas dulces. Mundí - Prensa. Madrid, España. 365 p.
6. Betts, J., Beack, T. & Wilson, G. (1967). A procedure for small scale laboratory bioassays. J. Wat. Pollut. Control Fed. 39 (1): 86-89.
7. Brizuela, F. (1971). Bioensayos para calcular el TLM en aguas contaminadas por desechos industriales. Tesis de Licenciatura. I.P.N. México. 67 p.
8. Brungs, W.A. (1973). "Continuous - flow bioassay with aquatic organisms: procedures and aplicaciones". Biological Methods for the Assesment of Water Quality, A.S.T.M. S.T.P. 528, American Society for Testing and Materials. 117 - 126.
9. Brungs, W.A. & Mount, D.I. (1978). Introduction to a discussion of the use of aquatic toxicity tests for evaluation of the -- effects of toxic substances. In: Estimating the Hazard of Chemical Substances to Aquatic Life (Edited by Cairns J. Jr., K.L. Dickson & A.W. Maki). American Society for Testing and Materials. Philadelphia, PA. 15-32.
10. Bulkema, L.A., Niederlehner, R.B. & Cairns, J. (1982). Biological monitoring. Part IV - Toxicity Testing. Water Res. 16:239-262.

11. Cairns, J. Jr. (1957). Environment and time in fish toxicity Ind. Wastes. 2: 1-5.
12. Cairns, J. Jr., Scheier, L.M. & Hess, N.E. (1964). "Effects of ABS on aquatic organisms". Industrial Water and Wastes. 9: (22).
13. Cairns, J. Jr. (1967). Suspended solids standards for the protection of aquatic organisms. Preprinted for the 22nd Purdue Industrial Waste Conference, May 2-4, at Purdue University. 22.
14. Cairns, J. Jr., & Dickson, K.L. (1978). "Field and laboratory protocols for evaluating the effects of chemical substances on aquatic life". Journal of Testing and Evaluation. J.T.E.V.A. 6 (2): 81-90.
15. Calderón, A.L. e Infante, G.S. (1980). Manual de Análisis Probit. Colegio de Postgraduados, CEC. Chapingo, México. 107 pag.
16. Cifuentes, R., Rodríguez, J.L.C. y Zarur, M.A. (1970). Panorama general de la contaminación del agua en México. FIR: MP/70/R-19: Documento presentado a la conferencia técnica de la FAO sobre la contaminación de las aguas del mar y sus efectos en los recursos vivos y la pesca. Roma, Italia. 9-18 dic. 18 p.
17. Doudoroff, P., Anderson, B.G., Burdick, G.E. Galtsoff, P.S., Hart, W.B., Patrick, R., Strong, E.R., Suber, E.W. & Van Horn, W.M. (1951). Bio-assay for the evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish. Sew. Ind. Wastes. 23: 1380-1397.
18. European Inland Fisheries Advisory Commission (E.I.F.A.C.). (1975). Report on fish toxicity testing procedures. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. Technical Paper 24. 26 p.
19. Flis, J. (1968). Anatomicohistopathological changes induced in carp (*Cyprinus carpio* L.) by ammonia water. Part. 1 Effects of toxic concentrations. Acta Hydrobiol. 10: 205-224.
20. Finney, D.J. (1964). Statistical methods in biological assay 2nd ed. Charles Griffin & Co. London. 668 p.

21. Greven, U. (1953). Untersuchungenme Thoden zur Feststellung der Ein wirkung von Abwassern auf Tiere und Pflanzen. Gewass., U. Abwäss., 3: 46-60.
22. Harding, P.J. (1949). The use of probability paper for the graphical analysis of polimodal frecueny distributions. Journ. Mar. Biol. Assoc. XXVIII: 141-153.
23. Hart, W.B., Doudoroff, P. & Greenbank, J. (1945). The evaluation of the toxicity of industrial wastes, chemical and other substances to fresh-water fishes. Waste Control Laboratory, Atlantic Refining Co., Philadelphia. 317 p.
24. Hernández, H.R. (1978). La problemática ambiental de México ¿miopía política? Protección de la Calidad del Agua AC. IV. (2): 25-33.
25. Henderson, C. & Tarzwell, C.M. (1957). Bloassay for control of industrial effluent. Sewage Ind. Wastes 29: 1002-1017.
26. Itazawa, Y. (1971). An estimation of the minimun level of dissolved oxygen in water required for normal life of fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 37 (4): 273-276.
27. Jensen, A.L. (1972). Standard error of LC50 and sample size in fish bioassay. Water Res. 6: 85-89.
28. Litchfield, J.T. & Wilcoxon, F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmac. Exp. Ther. 96: 99-113.
29. López, P. (1975). Bioensayos en tres especies: Tilapia melanopleura, Cyprinus carpio y Micropterus salmoides, para probar la toxicidad de las aguas residuales de dos industrias (Ingenio azucarero y Tenería) y aguas residuales domésticas de la Cd. de Cuernavaca, Mor. Tésis de Licenciatura. UANL. México. 48 p.
30. Lukanenko, V.I. (1967). Fish toxicology. Moskva, Izd. Pishchevaia Promishlennost.
31. Macek, K.J., Birge, W., Mayer, F.L., Buikema, A.L. Jr. & Maki, A.W. (1978). Discussion session synopsis of the use of aquatic toxicity tests for evaluation of the effects of toxic substances. In: Estimating the Hazard of Chemical Substances to Aquatic Life (Edited by Cairns, J. Jr. Dickson, K.L. & Maki, A.W.). American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA. 27-32.

32. Magaña, M.P. (1981). Bioensayos preliminares para evaluar la toxicidad de las descargas industriales (Papelera, Tenería, Productos químicos e Ingenio) con los peces Cichlasoma gadovii y Sarotherodon mossambicus en la cuenca del río Blanco, Ver. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 118 p.
33. Mc Neely, N.R., Nei manis, P.V., & Dewyer, L. (1979). Water quality sourcebook, a guide to water quality parameter. Inland Water Directorate. Water Quality Branch. Ottawa, Canadá. 89 p.
34. National Academy of Sciences and National Academy of Engineering (1973). Water Quality Criteria of 1972. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, D.C. (EPA-R3-73-033). 1v.
35. Peltier, W. (1978). Method for measuring the acute toxicity of effluents to aquatic organisms. EPA-600/4-78-012. Cincinnati, Ohio. EUA. 52 p.
36. Sarig, S. (1966). Synopsis of biological data on common carp Cyprinus carpio (Linnaeus), 1758. FAO Fish. Synops. 2(31). 39 p.
37. Secretaría de Pesca (1982). Manual técnico para el cultivo de la carpa. Dir. Gral. de Acuicultura, Dir. Gral. de Planeación. México. 105 p.
38. Smart, G. (1976). The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (Salmo gairdnerii). J. Fish. Biol. 8: 471-475.
39. Sprague, J.B. (1969). Measurement of pollutant toxicity to fish-I. Bioassay methods for acute toxicity. Water Res. 3: 793-821.
40. Sprague, J.B. (1970). Measurement of pollutant toxicity to fish-II. Utilizing and applying bioassay results. Water Res. 4: 3-22.
41. Sprague, J.B. (1971). Measurement of pollutant toxicity to fish-III. Sublethal effects and "safe" concentrations. Water Res. 5: 245-266.
42. Sprague, J.B. (1973). The ABC's of pollutant bioassay using fish. In: Biological Methods for the Assessment of Water

- Quality (Edited by Cairns, J. Jr. & Dickson, K.L.). American Society for Testing and Materials. Philadelphia, PA. 6-30.
43. Secretaría de Recursos Hidráulicos (1972). Planeación e instalación de la red de muestreos de la calidad del agua en las zonas de alta contaminación, río Blanco, Ver. la. etapa CIFSA. Dir. Gral. de Usos del Agua y Prevención de la Contaminación. México. 266 p.
 44. Secretaría de Recursos Hidráulicos (1973). Plan Nacional Hidráulico. Presentación. Subsecretaría de Planeación. México. 21 p.
 45. Secretaría de Recursos Hidráulicos, Secretaría de Salubridad y Asistencia (1973). Reglamento para la prevención y control de la contaminación de aguas. México. 32 p.
 46. Secretaría de Recursos Hidráulicos (1976). Protección y mejoramiento de la calidad del agua. Resultados y proyecciones, planes y estrategias nacionales. Dir. Gral. de Usos del Agua y Prevención de la contaminación. México. 410 p.
 47. United States Environmental Protection Agency (U.S.E.P.A.) (1974). Bioassay in water quality analysis and effluent monitoring, training manual. lv.
 48. Viscaíno, M.F. (1980). La contaminación en México. Fondo de Cultura Económica. México. 514 p.
 49. Veselov, E.A. (1957). Uch. Zap. Petrozavodsk. Univ. 7,3.
 50. Wilber, G. Ch. (1971). The biological aspects of water pollution. Charles, C. Thomas Publisher, USA. 296 p.
 51. Woodwiss, F.S. & Fretwell, G. (1974). The toxicities of sewage effluents, industrial discharges and some chemical substances to brown trout (*Salmo trutta*) in the Tuent river Authority area. Wat. Pollut. Control. 73 (4): 215-223.