

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Evaluación de la motilidad, morfología externa y regeneración de *Girardia festae* (Borelli, 1998) “planaria de agua dulce” en medios con cloruro mercuríco

MIGUEL ANGEL GONZALES OLIVOS

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Asesor: Dr. Hugo Gonzales Figueroa

Lima, Perú
2021

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Evaluación de la motilidad, morfología externa y regeneración de *Girardia festae* (Borelli, 1998) “planaria de agua dulce” en medios con cloruro mercuríco

MIGUEL ANGEL GONZALES OLIVOS

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Asesor: Dr. Hugo Gonzales Figueroa

Lima, Perú
2021

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Evaluación de la motilidad, morfología externa y regeneración de *Girardia festae* (Borelli, 1998) “planaria de agua dulce” en medios con cloruro mercuríco

MIGUEL ANGEL GONZALES OLIVOS

MIEMBROS DEL JURADO CALIFICADOR Y ASESOR

PRESIDENTE:

Lic. ROBERTO PINEDA CHAVARRIA

SECRETARIO:

Blgo. MIGUEL DÁVILA ROBLES

VOCAL:

Mg. CARLOS SCOTTO ESPINOZA

ASESOR:

Dr. HUGO GONZALES FIGUEROA

Dedicatoria

Al barro que sabiéndose barro ríe despreocupado frente a lo inexorable

Al sueño que se inventa para reinventar el pretexto de ser

A la palabra que libera del silencio y del bullicio

A la partida de ajedrez imaginario que acaba...

Agradecimientos

A Hugo Gonzales Figueroa, mi asesor de tesis, quien desde las aulas inculcó el aprecio a la complementariedad del conocimiento humano en toda su extensión revalorando la sensibilidad y la capacidad crítica para interpretar de la realidad.

A Mario Aguayo, Diego Santiago y Luis Pabón, mis compañeros durante la etapa de pregrado, quienes acompañaron el proceso de diseño e implementación del proyecto.

Índice

1. Introducción	9
1.1. Planteamiento del problema	10
1.2. Formulación del problema	10
1.3. Justificación de la investigación	10
1.4. Objetivo general	11
1.5. Objetivos específicos	11
2. Marco teórico	12
2.1. <i>Girardia festae</i>	12
2.2. Toxicidad del mercurio (Hg)	13
2.3. Toxicidad del cloruro mercúrico (HgCl₂)	13
3. Antecedentes	14
4. Hipótesis	15
5. Materiales y métodos	16
5.1. Lugar de ejecución	16
5.2. Tipo y diseño de investigación	16
5.3. Variables	16
5.4. Recolección del material biológico	16
5.5. Cloruro mercúrico	17
5.6. Procedimiento	17

5.7. Análisis de datos	18
6. Resultados	19
6.1. Análisis de individuos enteros	19
6.2. Análisis de individuos diseccionados	22
7. Discusión	22
8. Conclusiones	25
9. Recomendaciones	26
10. Referencias	27
11. Anexos	32
Tablas	32
Figuras	35

Índice de tablas

Tabla 1. Tamaño de muestra en el bioensayo con individuos enteros (n = 45)

Tabla 2. Tamaño de muestra en el bioensayo con individuos diseccionados (n = 18)

Tabla 3. Mortandad de especímenes enteros expuestos a un medio normal, a 0.03 ppm y 0.08 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Tabla 4. Promedio de la longitud (mm) de especímenes enteros expuestos a un medio normal y a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Tabla 5. Promedio de la velocidad de especímenes enteros expuestos a un medio normal y a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Tabla 6. Promedio de la longitud de especímenes enteros en medio normal durante 10 días luego de haber sido expuestos al tratamiento de 0.03 ppm de HgCl₂ por 6 días

Tabla 7. Promedio de la velocidad de especímenes enteros en medio normal durante 10 días luego de haber sido expuestos al tratamiento de 0.03 ppm de HgCl₂ por 6 días

Tabla 8. Promedio de la longitud de especímenes cortados expuestos a un medio normal y 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación del lugar de muestreo

Figura 2. Promedio de la longitud de especímenes enteros expuestos a un medio normal y a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Figura 3. Promedio de la velocidad de especímenes enteros expuestos a un medio normal y a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Figura 4. Tipo de movimiento de especímenes enteros expuestos a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Figura 5. Tipo de movimiento anormal de especímenes enteros expuestos a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Figura 6. Tipo de morfología externa de especímenes enteros expuestos a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Figura 7. Tipo de alteración de la morfología externa de especímenes enteros expuestos a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Figura 8. Promedio de la longitud de especímenes enteros en medio normal durante 10 días luego de haber sido expuestos al tratamiento de 0.03 ppm de HgCl₂ por 6 días

Figura 9. Promedio de la velocidad de especímenes enteros en medio normal durante 10 días luego de haber sido expuestos 0.03 ppm de HgCl₂ por 6 días

Figura 10. Promedio de la longitud de especímenes cortados expuestos a un medio normal y 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Resumen

Los xenobióticos ambientales, como los metales pesados, alteran el nicho ecológico al que están acoplados en su vivir cotidiano los organismos biológicos. La regeneración corporal, que caracteriza a ciertos organismos vivos, sirve como un indicador fundamental para verificar los cambios producidos en sus patrones estructurales y de funcionamiento producto de esa perturbación ambiental.

En el presente trabajo, se evaluó la motilidad, morfología externa y regeneración de especímenes de *Girardia festae* en concentraciones de HgCl₂, un xenobiótico bioacumulable, mediante dos bioensayos con especímenes: (i) enteros colocados, por seis días, en agua destilada (medio control) (n=11), y en otros con soluciones de 0.03 ppm (n=17) y 0.08 ppm (n=17) de HgCl₂; y (ii) cortados colocados, durante seis días, en un medio control (n = 9) y en tratamiento de 0.03 ppm de HgCl₂ (n = 9).

Los 11 especímenes expuestos al medio normal sobrevivieron los 6 días. De las 17 planarias expuestas a 0.03 HgCl₂, 9 murieron durante los 6 días del tratamiento, sobreviviendo solo 8 especímenes. Los 17 individuos enteros expuestos a 0.08 ppm de HgCl₂ murieron a las 24 horas.

En los especímenes del medio control y del medio con 0.03 ppm se observó que luego de los seis días de exposición su longitud corporal no fue afectada significativamente; sin embargo, su motilidad y velocidad de movimiento se alteró durante los tres primeros días, pero se normalizó en el cuarto día; además, luego de 24 horas de exposición, se alteró su movimiento de modo que espirilaban su cuerpo, algunos desde la parte anterior y otros desde la parte posterior. En relación a su morfología externa, se distinguieron cinco alteraciones: ensanchamiento del medio cuerpo, la pérdida

de aurículas, de la cola, de la región anterior de la cabeza y de la cabeza completa. Respecto a su regeneración corporal, no se vio afectada significativamente.

Estos resultados demuestran que concentraciones 0.03 ppm de HgCl₂ perturban el comportamiento y la morfología externa de los especímenes de *G. festae*, puestos a prueba, posiblemente por la acumulación de este xenobiótico, principalmente, en la región cefálica.

Palabras clave: *Girardia festae*, cloruro mercuríco

Abstract

Environmental xenobiotics, like heavy metals, alter the ecological niche to which biological organisms are attached in their daily lives. Body regeneration, which characterizes certain living organisms, serves as a fundamental indicator to verify the changes produced in their structural and functioning patterns as a result of this environmental disturbance.

In the present work, the motility, external morphology and regeneration of specimens of *Girardia festae* were evaluated in concentrations of HgCl₂, a bioaccumulative xenobiotic, by means of two bioassays with specimens: (i) whole specimens placed, for six days, in distilled water (control medium) (n = 11), and in others with solutions of 0.03 ppm (n = 17) and 0.08 ppm (n = 17) of HgCl₂; and (ii) slices placed, for six days, in a control medium (n = 9) and in a treatment of 0.03 ppm of HgCl₂ (n = 9).

The 11 specimens exposed to the normal medium survived the 6 days. Of the 17 planarians exposed to 0.03 HgCl₂, 9 died during the 6 days of treatment, with only 8 specimens surviving. All 17 whole individuals exposed to 0.08 ppm of HgCl₂ died within 24 hours.

In the specimens of the control medium and the medium with 0.03 ppm it was observed that after six days of exposure their body length was not significantly affected; however, his motility and speed of movement altered during the first three days, but normalized on the fourth day. Furthermore, after 24 hours of exposure, his movement was altered, so that some from the front and others from the back were spying on his body. In relation to its external morphology, five alterations were distinguished: widening of the

middle body, the loss of atria, the tail, the anterior region of the head and the complete head. Regarding his body regeneration, it was not significantly affected.

These results show that concentrations of 0.03 ppm of HgCl₂ disturb the behavior and external morphology of *G. festae* specimens, put to the test, possibly by the accumulation of this xenobiotic, mainly, in the cephalic region.

Keywords: *Girardia festae*, mercuric chloride

1. Introducción

Actualmente, los estragos ambientales que el humano ha generado durante su desarrollo histórico sobre su entorno representan uno de los mayores retos a afrontar. Entre los diversos problemas de contaminación ambiental, aquellos originados por metales pesados y, puntualmente, el mercurio, suelen ser generados por actividades humanas como la minería artesanal de oro afectando a la población circundante y sus medios de vida.

En ecosistemas afectados resulta imprescindible identificar y determinar si el nivel de concentración en que se encuentran los agentes contaminantes puede perturbar las redes tróficas que representan la transferencia lineal de energía desde un productor a un consumidor.

En biología, la regeneración es un proceso que puede ocurrir en todos los niveles de la organización biológica mediante el cual algunos organismos tienen la habilidad de recuperar la estructura y la función de órganos o partes del cuerpo dañados. En este contexto, resulta interesante usar algún organismo vivo con esta capacidad para ser usado como bioindicador para medir el nivel de perturbación de algún xenobiótico.

La planaria de agua dulce es un organismo usado como modelo por su versatilidad, puesto que posee hipersensibilidad frente a cambios en su medio y es capaz de regenerar un organismo completo a partir de un pequeño trozo de casi cualquier parte de su cuerpo.

En esta investigación se usó especímenes de *Girardia festae* y se analizó indicadores como motilidad, morfología externa y regeneración corporal en presencia de diferentes concentraciones de HgCl_2 , teniendo como base de comparación lo observado en condiciones normales. Se determinó que el tratamiento de 0.08 ppm de HgCl_2 es letal

para *G. festae* mientras que la regeneración de individuos en el medio con 0.03 ppm de HgCl₂ no es afectada significativamente.

1.1. Planteamiento del problema

La magnitud del problema es álgida puesto que responde en gran medida a los estragos ambientales que el humano, durante su desarrollo histórico, ha causado en su entorno. Dentro de los problemas de contaminación ambiental, están los originados por metales pesados y, entre ellos, el mercurio.

1.2. Formulación del problema

¿Qué concentraciones de cloruro mercúrico pueden perturbar el patrón de regeneración corporal y el comportamiento de especímenes de planaria de agua dulce?

Se propuso que el mercurio era un agente perturbador de cambios en los patrones de motilidad y regeneración corporal y se puso a prueba dos concentraciones diferentes de este metal pesado con la finalidad de encontrar cuál de ellos perturba la motilidad, morfología externa y los mecanismos de la regeneración en *G. festae*.

1.3. Justificación de la investigación

La relevancia de la investigación radica en el crecimiento acelerado de la contaminación de las fuentes acuíferas en el país, sin que se dé cuenta de los indicios de la pérdida de calidad de este recurso indispensable para la vida.

Su pertinencia se circunscribe a las posibilidades reales de la economía de los involucrados directos e indirectos en los problemas de contaminación de las fuentes de agua, puesto que a bajos costos es posible demostrar la tendencia de la contaminación

mediante la comparación de la motilidad, morfología externa y regeneración de *G. festae* “planaria de agua dulce” en dos tratamientos, primero con 0.03 ppm y luego con 0.08 ppm de HgCl₂, teniendo como base de comparación lo observado en condiciones normales.

La potencial utilidad de la investigación resulta práctica en dos dimensiones, primero en la posibilidad de identificar la contaminación con *G. festae*, como bioindicador; y segundo, en el dimensionamiento de tendencia de la carga del contaminante HgCl₂.

1.4. Objetivo general

Evaluar la motilidad, morfología externa y regeneración de *G. festae* (Borelli, 1998) “planaria de agua dulce” en concentraciones de HgCl₂.

1.5. Objetivos específicos

- Determinar la longitud, velocidad, tipo de movimiento y la morfología externa de especímenes enteros en un medio control (n = 11) y en tratamientos de 0.03 ppm y 0.08 ppm de HgCl₂ (n = 17, por cada tratamiento), durante 6 días.
- Determinar la longitud y velocidad de especímenes, que hayan sobrevivido a los tratamientos de 6 días, reubicados a un medio control, interdiariamente durante 10 días.
- Analizar el crecimiento del blastema en individuos cortados, en un medio control (n = 9) y en tratamiento de 0.03 ppm de HgCl₂ (n = 9), durante 6 días.

2. Marco teórico

2.1. *Girardia festae*

El phylum Platyhelminthes comprende alrededor de 50 000 especies conocidas como helmintos planos que habitan diversos nichos ecológicos (Littlewood y Bray, 2001). Entre las especies de este phylum, las planarias dulceacuícolas (Turbellaria: Tricladida) se caracterizan por su elevada plasticidad y habilidad de regenerarse por completo a partir de pequeños fragmentos (1/279 de un organismo adulto) (Hauser, Silveira y Carvalho, 1979; Hauser, Dias y Gehrke, 1980; De Vries y Sluys, 1991; y Sánchez, Newmark, Robb y Juste, 2002).

La observación del fenómeno de regeneración morfoláctico epimórfico blastemal en planarias como modelos biológicos (Hauser y Friedrich, 1982; Sánchez, 2000; y Saló y Bagaña, 2002), permite estudiar cómo funciona el mecanismo de control de la pluripotencialidad de las células madre mesenquimales adultas, denominadas neoblastos (Newmark y Sánchez, 2000; y Newmark y Sánchez, 2002), que se encuentran en mitosis y se diferencian para formar todos los tipos celulares de las planarias, incluso la línea germinal (Saló *et al.* 2009); es debido a este comportamiento de los neoblastos que las planarias poseen gran plasticidad morfológica, lo que les permite regenerarse a partir de casi cualquier pieza del cuerpo y cambiar su tamaño adulto según la disponibilidad de alimentos.

Estas características del comportamiento del neoblasto, que las planarias poseen, las hacen particularmente importantes en los ecosistemas, puesto que abren la posibilidad de ser usadas como bioindicadores del grado de contaminación de los acuíferos afectados por las actividades humanas.

2.2. Toxicidad del mercurio (Hg)

El Hg es un metal que actúa como agente neurotóxico en diversas especies, “en humanos se manifiesta como eretismo mercurial: excitabilidad, trastornos emocionales, alteraciones en la memoria y en la capacidad de concentración. En casos más graves el daño neurológico produce retraso psicomotor, incoordinación, ataxia, movimientos involuntarios, parálisis, sordera o ceguera” (Nuñez, Galar, García y Gómez, SN, p. 3). A nivel molecular, el Hg puede inhibir o estimular algunas enzimas y, junto a otros cationes esenciales para el organismo, se acumula en los lisosomas (Loumbourdis y Danscher 2008). Su afinidad por los grupos sulfhidrilos (SH) hace que inhiba los puentes disulfuros, modificando la estructura y función de las proteínas (Bridges y Zalups 2005; y Loumbourdis y Danscher 2008). En modelo animal, a nivel tisular, los mecanismos de toxicidad del metilmercurio (CH_3Hg) <forma orgánica del Hg> sobre tejidos en desarrollo son dos: (i) migración anormal e incompleta de células neuronales en cerebro y cerebelo; y (ii) inhibición de la división celular (Clarkson 1991 y Repetto 1995). La acción inhibitoria podría deberse a la capacidad del CH_3Hg para despolimerizar microtúbulos formados por tubulina, proteína rica en grupos (SH) con alta afinidad de unión con el CH_3Hg ; en consecuencia, este último podría bloquear fácilmente el proceso de ensamblaje impidiendo la polimerización del túbulo (Clarkson 1991).

2.3. Toxicidad del cloruro mercúrico (HgCl_2)

El Hg se encuentra en el ambiente formando, entre otros compuestos, la sal cloruro mercúrico (HgCl_2). En esta forma inorgánica es altamente tóxica para organismos acuáticos; además, sus propiedades fungicidas e insecticidas son aprovechadas en la industria agrícola (Muñoz y Palacio, 2010).

3. Antecedentes

Respecto a los efectos neurotóxicos del mercurio, Nuñez *et al.* (SN, p. 3) indican que “en humanos se manifiesta como eretismo mercurial: excitabilidad, trastornos emocionales, alteraciones en la memoria y en la capacidad de concentración. En casos más graves el daño neurológico produce retraso psicomotor, incoordinación, ataxia, movimientos involuntarios, parálisis, sordera o ceguera”.

Se han desarrollado diversos métodos para detectar Hg en agua; por ejemplo, Wylie *et al.* (1991) detectaron iones de mercurio (II) en agua [>0.6 ppb] mediante la prueba de ELISA con el uso de anticuerpos monoclonales; Wei *et al.* (2014) crearon un sistema de lector óptico radiométrico para teléfonos inteligentes que detecta iones de mercurio (II) con un nivel de sensibilidad de ppb; y Yoon *et al.* (2017) describieron la síntesis de un sensor fluorescente y específico para iones de mercurio (II), con la capacidad de detectarlos en agua, células y tejidos.

Sin embargo, en estas investigaciones no se hace una relación con la utilidad en contextos de pobreza como el de Perú, Wyatt *et al.* (2019) realizaron un estudio en las comunidades afectadas por la minería artesanal de oro en Madre de Dios, de sus resultados se estima que la población afectada por la contaminación de mercurio fue de 41 % en 2015 y 57 % en 2016, siendo las comunidades nativas más propensas a tener mercurio por encima de los niveles de USEPA y la OMS (>2.0 $\mu\text{g/g}$) que los de no nativas, 69 % frente a 14 % en 2015, y 83 % frente a 24 % en 2016.

Becker, Rogalski y Goulart (2010) usaron planarias *Girardia schubarti* como bioindicadores de HgCl_2 , el diseño experimental planteado contenía dos etapas a evaluar dos aspectos: (i) prueba de toxicidad y (ii) proceso de regeneración y movilidad, aunque

en la experimentación solo realizaron la primera. Los especímenes fueron expuestos durante 96 horas a tres tratamientos de concentraciones de HgCl₂ al 0,001 mg/L, 0,002 mg/L y 0,003 mg/L, además del medio control que fue agua destilada.

Oviedo, Newmark y Sánchez (2003) evaluaron el proceso de regeneración de planarias *Schmidtea mediterranea*, para tener una idea escala de la naturaleza molecular y mecanismo de este proceso en metazoos. Dentro del método establecido, los especímenes fueron privados de alimento 48 horas previas a cada experimento. Para evaluar la regeneración de los especímenes, les hicieron dos cortes transversales (amputación pre- y posfaringeal) en el plano dorso-ventral.

Boyd, Morita, Ragin y Best (1981) evaluaron la respuesta de las planarias *Dugesia dorotocephala* expuestas a concentraciones de cloruro de metilmercurio (CMM). La comparación con los controles 3 días después de la decapitación, mostró un retraso en la regeneración de la cabeza en 0.1 ppm y 0.2 ppm de CMM, siendo más severo en el segundo. En los especímenes expuestos a 0.08 ppm o menos de CMM, se observaron conductas de neurotoxicidad: letargo, movimientos lentos, dificultad y descoordinación en su respuesta de corrección (tigmotaxis), y parálisis parcial o completa de la mitad caudal.

4. Hipótesis

Hipótesis: La motilidad, morfología externa y los mecanismos de la regeneración de *G. festae* son afectados por el HgCl₂.

Predicción: La presencia de distintas concentraciones de HgCl₂ perturbará la motilidad, morfología externa y los mecanismos de la regeneración en *Girardia festae*.

5. Materiales y métodos

5.1. Lugar de ejecución

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología y Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias Biológicas (FCB) de la Universidad Ricardo Palma (URP).

5.2. Tipo y diseño de investigación

Fue de diseño experimental y se analizaron los datos cuantitativos a partir de la interpretación del procesamiento estadístico y los cualitativos, de la interpretación sobre la base de los antecedentes.

5.3. Variables

La variable independiente fue la concentración de HgCl_2 . Las variables dependientes fueron la longitud, velocidad, tipo de movimiento y la morfología externa de las planarias.

5.4. Recolección del material biológico

Se usaron planarias de agua dulce, de la especie *Girardia festae*, recolectadas en los márgenes de la caída de catarata de la localidad Obrajillo, provincia Canta, Lima, Perú (76°36'56.48" O 11°26'51.80" S) (ver figura 1). Se empleó hígado fresco de pollo como carnada y se esperó entre 15-20 minutos para que las planarias sean atraídas por quimiotaxis (Iannacone y Tejada, 2007). Los individuos fueron transportados al Laboratorio de Biotecnología y Fisiología Animal de la FCB-URP. Se les acondicionó en un depósito de pírex, abastecido con agua destilada -esta fue empleada como solución o

medio control- (Becker *et al.* 2010), el sistema estuvo conectado a un oxigenador eléctrico, las condiciones térmicas correspondieron a la temperatura ambiental de la ciudad de Lima (17-22 °C); fueron alimentadas con hígado de pollo, una vez por semana (Iannacone y Tejada, 2007). Los individuos seleccionados no recibieron alimento 48 horas previas a cada experimento (Oviedo *et al.* 2003).

5.5. Cloruro mercúrico

Fue proporcionado por el Laboratorio de Biotecnología y Fisiología Animal de la Universidad Ricardo Palma. Las concentraciones de 0.03 ppm y 0.08 ppm de HgCl₂ fueron preparadas mediante diluciones seriadas del compuesto en agua destilada.

5.6. Procedimiento

Se escogieron 63 especímenes que medían entre 9 mm y 11 mm, luego fueron divididos en dos grupos de forma aleatoria: (i) enteros = 45; y (ii) diseccionados = 18. Los bioensayos fueron independientes y el tamaño de la muestra se estableció tomando como referencia a Jianyong *et al.* (2012) que, en una experimentación semejante, emplearon 10 especímenes de *Dugesia japonica* para cada bioensayo en que se los expuso a seis concentraciones diferentes de dimetilformamida.

(i) Análisis de individuos enteros (n = 45): se colocó un individuo por placa petri con 20 mL de medio control (n = 11), para la solución de 0.03 ppm y 0.08 ppm HgCl₂ se siguió el mismo procedimiento (n = 17 en cada una). La longitud y velocidad fue medida durante 6 días, aplicando la técnica de medición del milímetro: sobre una hoja milimetrada, se contaron cuántos cuadrados avanzó el individuo durante un minuto; el tipo de movimiento (normal o anormal) y la morfología externa (normal o anormal) también fueron observadas durante los 6 días. Las soluciones, de los tratamientos y

control, fueron renovadas interdiariamente: los días segundo y cuarto. Las planarias expuestas a los tratamientos, luego de 6 días fueron reubicadas en medio control, para medir la longitud y velocidad interdiariamente durante 10 días (Becker *et al.* 2010).

(ii) Análisis de individuos diseccionados (n = 18): se hizo un corte transversal por detrás de las aurículas (amputación posfaringeal) en el plano dorso-ventral (Oviedo *et al.* 2003), para ello se colocó hielo (que retardó el movimiento del individuo, facilitando una disección precisa) en la base del microscopio estereoscopio *Leica* EZ 4, luego el papel de filtro y, sobre él, el individuo. Se colocaron 9 planarias cortadas en una placa petri con 20 mL de medio control y las otras 9 en 20 mL de solución de HgCl₂ al 0,03 ppm. La longitud fue medida durante 6 días, aplicando la técnica del milímetro. Los medios tratamiento y control fueron renovados interdiariamente.

5.7. Análisis de datos

Los datos fueron procesados en el programa estadístico SPSS versión 22. Se utilizaron cinco pruebas: (i) Shapiro-Wilk para determinar la distribución normal en las medias; (ii) de contraste Wilcoxon para los datos que arrojen una distribución no paramétrica; (iii) T de Student para comparar medias relacionadas paramétricas; (iv) de U de Mann – Whitney para las medias independientes; y (v) de contraste de Levene para la igualdad de las varianzas.

6. Resultados

6.1. Análisis de individuos enteros

En la primera etapa se determinó la mortandad, longitud, velocidad, tipo de movimiento y la morfología externa de especímenes enteros en un medio control ($n = 11$) y en tratamientos de 0.03 ppm y 0.08 ppm de HgCl_2 ($n = 17$, por cada tratamiento), durante 6 días. La medición fue diaria.

Mortandad

Los 11 especímenes que fueron expuestos al medio normal sobrevivieron los 6 días. De las 17 planarias que fueron expuestas a 0.03 HgCl_2 , 9 murieron durante los 6 días del tratamiento, sobreviviendo solo 8 especímenes. Los 17 individuos enteros que recibieron el tratamiento de 0.08 ppm de HgCl_2 murieron a las 24 horas.

Longitud (mm)

La longitud al inicio y final de los especímenes enteros expuestos a medio normal no tienen una distribución normal (prueba de normalidad de Shapiro-Wilk $p=0.004$ y $0.034 < 0.05$, respectivamente), mientras que los expuestos al tratamiento de 0.03 ppm de HgCl_2 sí las tienen (prueba de normalidad de Shapiro-Wilk $p=0.093$ y $0.111 > 0.05$, respectivamente). Los tamaños de ambos grupos tanto al inicio como al final no tienen diferencia significativa (prueba U de Mann-Whitney $p=0.576$ y $0.286 > 0.05$, respectivamente). En la figura 2 se presenta el promedio de la longitud de los especímenes enteros expuestos a un medio normal y a 0.03 ppm de HgCl_2 durante los 6 días.

Velocidad (mm/min)

Las velocidades de movimiento medidas durante 6 días de los individuos enteros expuestos a medio normal y a 0.03 ppm de HgCl_2 tienen distribución normal (prueba de normalidad de Shapiro-Wilk $p=0.434, 0.225, 0.447, 0.57$ y $0.733 > 0.05$, respectivamente). Las varianzas de estos dos grupos en cada día son iguales (contraste de Levene sobre la igualdad de las varianzas $p=0.726 > 0.05$). Las medias de las velocidades de movimiento de ambos grupos son significativamente diferentes en los días 1, 2 y 3 (prueba T de Student, $p=0.00 < 0.05$, en cada caso) y significativamente similares en los días 4 y 6 (prueba T de Student, $p=0.847$ y $0.214 > 0.05$, respectivamente). En la figura 3 se presenta el promedio de la velocidad de especímenes enteros expuestos a un medio normal y a 0.03 ppm de HgCl_2 durante 6 días.

Tipo de movimiento

Los individuos enteros que fueron expuestos a un medio normal durante 6 días no presentaron ningún cambio en su forma de moverse; en tanto, en el grupo que fue expuesto a 0.03 ppm de HgCl_2 durante el mismo tiempo, se observó que algunos especímenes se movilizaban de manera anormal (ver figura 4), en dicho movimiento anómalo se pudo reconocer 2 patrones distintos de desplazamiento: en el primero los individuos espiralaban su cuerpo desde la parte anterior (cabeza); y en el segundo, desde la parte posterior (cola) (ver figura 5).

Morfología externa

Ninguno de los especímenes enteros que fueron expuestos a un medio normal durante 6 días presentó alteración alguna en su morfología externa; en tanto, en el grupo que fue expuesto a 0.03 ppm de HgCl_2 durante el mismo tiempo, se observó que algunos

mostraron alguna alteración (ver figura 6), estas alteraciones fueron el ensanchamiento del medio cuerpo, la pérdida de aurículas, de la cola, de la región anterior de la cabeza y de la cabeza completa (ver figura 7).

En la segunda etapa se determinó la longitud y velocidad de los 8 especímenes sobrevivientes al tratamiento de 0.03 ppm de HgCl_2 (primera etapa) reubicados en un medio control, durante 10 días. La medición fue interdiaria.

Longitud (mm)

La longitud inicial de los especímenes no tiene distribución, en tanto que la longitud final sí la tiene (prueba de normalidad de Shapiro-Wilk $p=0.018 < 0.05$ y $p=0.178 > 0.05$, respectivamente). Luego de los 10 días no se observó una variación significativa de la longitud de los especímenes (prueba de los rangos con signo de Wilcoxon $p=0.113 > 0.05$). En la figura 8 se presenta el promedio de la longitud de los especímenes durante los 10 días.

Velocidad (mm/min)

Las velocidades de movimiento iniciales de los especímenes no tienen una distribución normal, mientras que las velocidades de movimiento finales sí las tienen (prueba de normalidad de Shapiro-Wilk $p=0.043 < 0.05$ y $p=0.977 > 0.05$, respectivamente). Luego de los 10 días se observó una reducción significativa de la velocidad de movimiento en este grupo de especímenes (prueba de los rangos con signo de Wilcoxon $p=0.035 < 0.05$). En la figura 9 se presenta el promedio de la velocidad de los especímenes durante los 10 días.

6.2. Análisis de individuos diseccionados

Se analizó el crecimiento del blastema en individuos cortados, en un medio control (n = 9) y en tratamiento de 0.03 ppm de HgCl₂ (n = 9), durante 6 días.

Longitud (mm)

Los tamaños de los individuos no tienen una distribución normal los días 0 y 1, pero sí la tienen los días 2, 3, 4 y 6. No se observó diferencia significativa entre los tamaños de ambos grupos en los días 0 y 1 (prueba U de Mann-Whitney $p=0.064$ y $1 > 0.05$, respectivamente), al igual que en los días 2, 3, 4 y 6 (prueba T de Student $p=0.559, 0.295, 0.358$ y $0.327 > 0.05$, respectivamente). En la figura 10 se presenta el promedio de la longitud de los especímenes durante los 6 días.

7. Discusión

En este trabajo se evaluó los cambios en los patrones de motilidad y de regeneración corporal de especímenes de *G. festae* en presencia de dos concentraciones de HgCl₂.

La exposición de *G. festae* enteras a un medio con 0.03 ppm de HgCl₂ durante seis días no afectó significativamente a su longitud en comparación al grupo control; sin embargo, se observó decrecimiento en ambos grupos. Esto pudo ocurrir porque durante el experimento no se alimentó a los especímenes y, según Newmark y Sánchez (2002), la reducción del tamaño en planarias dulceacuícolas es un fenómeno que sucede debido a condiciones limitantes nutricionales y su capacidad de decrecer a un tamaño incluso más pequeño que cuando emergen de la cápsula embrionaria.

Jianyong *et al.* (2012) observaron que en especímenes de *Dugesia japonica* la velocidad de movimiento se reduce significativamente al aumentar el tiempo de exposición y la concentración de dimetilformamida ((CH₃)₂-N-CHO). En el presente estudio se evidenció un efecto semejante en especímenes enteros de *G. festae* expuestos a 0.03 ppm de HgCl₂ durante los tres primeros días, en que la velocidad de movimiento es significativamente menor respecto al grupo control; sin embargo, se normaliza en los días 4 y 6. Ello demuestra que sustancias tóxicas como las mencionadas afectan la velocidad de movimiento de las planarias.

Nuestros resultados muestran que los especímenes enteros de *G. festae* expuestos a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días presentan alteraciones en su movimiento. Anormalidades similares también han sido referidas en especímenes de *Dugesia dorotocephala* decapitados quirúrgicamente y expuestos a 0.08 ppm o menos de cloruro de metilmercurio (CH₃ClHg) (Boyd y Morita, 1982). Por otro lado, también se ha observado que alevinos de *Prochilodus magdalenae* (bocachico) expuestos a 0.1, 0.13, 0.17, 0.22 y 0.29 mg/L de HgCl₂ presentan alteraciones en su movimiento como nado convulsivo y errático, inmovilidad intermitente y la reducción progresiva de los movimientos operculares (Palacio, Aguire y Barrera, 2002). En consecuencia, la toxicidad del HgCl₂ sobre especies acuáticas se evidencia en las alteraciones del movimiento que genera en estas.

En la presente investigación, los individuos enteros expuestos durante 6 días a 0.03 ppm de HgCl₂ mostraron cinco alteraciones morfológicas: la pérdida de aurículas (la más frecuente), ensanchamiento del medio cuerpo, de la cola, de la región anterior de la cabeza y de la cabeza completa. Anormalidades morfológicas en la cabeza también se presentan en especímenes de *Dugesia dorotocephala* decapitados quirúrgicamente

expuestos a concentraciones entre 0.1 ppm y 0.2 ppm de cloruro de metilmercurio (CH_3ClHg) (Boyd y Morita, 1982). Ello demuestra que sustancias tóxicas, como las mencionadas, afectan la morfología externa y, en consecuencia, la evaluación de esta y las anteriores variables es viable al emplear a las planarias como bioindicadores del grado de contaminación de los acuíferos afectados por las actividades humanas.

Jianyong *et al.* (2012) observaron que los especímenes de *Dugesia japonica* transferidos a agua, tras ser expuestos a 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm y 1000 ppm de dimetilformamida ($(\text{CH}_3)_2\text{N-CHO}$) durante 7 días, recuperaron su motilidad significativamente después de 24 h. En nuestro caso, los individuos enteros transferidos a medio normal, luego de ser expuestos a 0.03 ppm de HgCl_2 durante 6 días, mostraron una reducción significativa de la velocidad de movimiento tras 10 días con una tendencia a normalizarse. Por consiguiente, la evidencia demuestra que las planarias transferidas a agua, luego de haber sido expuestas a sustancias tóxicas, tienden a recuperar la velocidad normal de movimiento.

La regeneración corporal de individuos diseccionados expuestos a 0.03 ppm de HgCl_2 durante 6 días no es afectada significativamente; sin embargo, se observó un decrecimiento en el tercer día. Resultados similares reportan Iannacone y Tejada (2007) en especímenes diseccionados de la misma especie expuestos a 1.17 mg L^{-1} de carbofurano ($\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$), donde observaron una disminución en el tamaño tras cinco días; además, encontraron una ligera hormesis en sus partes cefálicas y caudales regeneradas, al lograr un mayor porcentaje de crecimiento estadísticamente significativo en $2.34 \text{ mg de carbofurano L}^{-1}$ en comparación con el control. Luckey (1968) indica que en el fenómeno hormesis u hormoligosis cantidades pequeñas de un agente estresante (sustancias químicas, temperatura, radiación o lesiones menores) pueden ser útiles para

un organismo en ambientes subóptimos, este fenómeno ocurre en numerosos invertebrados.

Jianyong *et al.* (2012) observaron que en especímenes de *Dugesia japonica* la mortalidad es directamente proporcional a la concentración con un medio de dimetilformamida. En nuestro trabajo, del grupo de individuos enteros, el 53 % murió luego de 3 días en 0.03 ppm HgCl₂, en tanto que el 100 % murió tras 24 h en 0.08 ppm de HgCl₂; lo cual nos da a entender que la mortalidad para individuos enteros expuestos a este compuesto también es directamente proporcional a la concentración de este. Sin embargo, no se observó ninguna muerte en el grupo de individuos diseccionados luego de 6 días en 0.03 ppm HgCl₂, ello también podría ser un efecto del fenómeno hormesis en que dos agentes estresantes (HgCl₂ y decapitación) pueden ser útiles para un organismo en ambientes subóptimos (Luckey, 1968). Posteriormente, se necesitan más estudios para comprender las causas fisiológicas por las que los individuos diseccionados son más resistentes, frente a los enteros, a la exposición de 0.03 ppm HgCl₂ en esta especie de planaria.

8. Conclusiones

- La exposición de *G. festae* a un medio con 0.03 ppm de HgCl₂ durante seis días no afecta significativamente a su longitud, pero sí a su velocidad de movimiento, forma de desplazarse y morfología externa.
- En los especímenes de *G. festae*, sobrevivientes a un medio con 0.03 ppm de HgCl₂ durante seis que luego fueron trasladados en un medio control, decrece significativamente su velocidad luego de diez días, pero la longitud no varía significativamente en el mismo periodo.

- La regeneración corporal de individuos de *G. festae* expuestos a un medio con 0.03 ppm de HgCl₂ durante seis días no es afectada significativamente.
- La dosis de 0.08 ppm de HgCl₂ es letal para *G. festae* tras 24 horas de exposición.

9. Recomendaciones

En estudios posteriores con el contaminante HgCl₂ utilizando *G. festae* como bioindicador, sería conveniente que se analicen las variables seleccionadas en concentraciones menores a 0.08 ppm y en ensayos seriados, por ejemplo, de 0.02, 0.04 y 0.06 ppm.

10. Referencias

- Becker, A., Rogalski, F. y Goulart, L. (2010). A utilização de planárias *Girardia schubarti* como bioindicadores em testes de toxicidade com mercúrio. *Bioensaio*, 2, 1-5.
Recuperado el 15/07/2019 de http://w3.ufsm.br/bioensaio/Volume2/Becker_et_al.pdf
- Boyd, J. y Morita, M. (1982). Planarians as a model system for in vitro teratogenesis studies. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis* 2, 277-291.
doi: [https://doi.org/10.1002/1520-6866\(1990\)2:3/4<277::AID-TCM1770020309>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1520-6866(1990)2:3/4<277::AID-TCM1770020309>3.0.CO;2-8)
- Boyd, J., Morita, M., Ragin, J. y Best, J. (1981). Acute toxic responses of the freshwater planarian, *Dugesia dorotocephala*, to methylmercury. *Bull. Environm. Contarn. Toxicol.* 27, 49-54. doi: 10.1007/bf01610985
- Bridges, C. y Zalups, R. (2005). Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 204, 274-308.
doi: 10.1016/j.taap.2004.09.007
- Clarkson, T. (1991). Methylmercury. *Fundamental and applied toxicology*, 16, 20-21.
doi: doi.org/10.1093/toxsci/16.1.20
- De Vries, E. y Sluys, R. (1991). Phylogenetic relationships of the genus *Dugesia* (Platyhelminthes, Tricladida, Paludicola). *Journal of Zoology*, 223, 103-116. doi: 10.1111/j.1469-7998.1991.tb04752.x

- Hauser, J., Dias, M. y Gehrke, S. (1980). Processos histomorfológicos na regeneração em uma cauda de *Dugesia schubarti* (Marcus, 1946). *Acta Biologica Leopoldensia*, 2, 183-196
- Hauser, J. y Friedrich, S. (1982). Morphogenesis of regenerating fragments of *Dugesia schubarti*. *Experimental Cell Biology*, 50, 61-71. doi: 10.1159/000163129
- Hauser, J., Silveira, D. y Carvalho, I. (1979). Observations on the regeneration rhythm of a new head in different regions of the body of *Dugesia schubarti*. *Acta Biologica Leopoldensia*, 2, 225-236.
- Iannacone, J. y Tejada, M. (2007). Empleo de la regeneración de la planaria de agua dulce *Girardia festae* (Borelli, 1898) (Tricladida: Dugesiidae) para evaluar la toxicidad del carbofurano. *Neotropical Helminthology*, 1(1), 7-13. Recuperado el 07/07/2019 de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4764246.pdf>
- Jianyong, Z., Zuoqing, Y., Mingyue, Z., Yuqian, S., Youjun, W. y Shudong, Y. (2008). Effects of N,N-dimethylformamide on behaviour and regeneration of planarian *Dugesia japonica*. *Toxicology and Industrial Health*, 29(8), doi: 10.1177/0748233712443148
- Littlewood, T. y Bray, R. (Eds.) 2001. Interrelationships of the Platyhelminthes. *Folia Parasitologica*, 48(2), 104. doi: 10.14411/fp.2001.014
- Loumbourdis, N. y Danscher, G. (2008). Autometallographic tracing of Hg–S quantum dots in frogs exposed to inorganic mercury. *Biometals*, 21, 311-319. doi: 10.1007/s10534-007-9120-9

- Luckey, T. (1968) Insecticide hormoligosis. *Journal of Economic Entomology*, 61 (1).
doi: 10.1093/jee/61.1.7
- Muñoz, E. y Palacio, J. (2010). Efectos del cloruro de mercurio (HgCl₂) sobre la sobrevivencia y crecimiento de renacuajos de *Dendrosophus bogerti*. *Actual Biol*, 32(93), 189-197. Recuperado el 20/11/2019 de <http://www.scielo.org.co/pdf/acbi/v32n93/v32n93a6.pdf>
- Newmark, P. y Sánchez, A. (2000). Bromodeoxyuridine specifically labels the regenerative stem cells of planarians. *Developmental Biology*, 220, 142-153.
doi: 10.1006/dbio.2000.9645
- Newmark, P. y Sánchez, A. (2002). Not your father's planarian: a classic model enters the era of functional genomics. *Nature Reviews Genetics*, 3, 210-220.
doi: 10.1038/nrg759
- Núñez, J., Galar, M., García, S. y Gómez, L. (SN). Daño genotóxico y citotóxico producido por mercurio sobre células sanguíneas de (*Cyprinus carpio*).
- Palacio, J.; Aguirre, N. y Barrera, J. (2002). Efectos tóxicos de la exposición aguda de *Prochilodus magdalenae* a cloruro de mercurio. *Actual Biol* 24(77), 33-38.
Recuperado el 05/03/2019 de <https://revistas.udea.edu.co/index.php/actbio/article/view/329536/20785967>
- Repetto, M. (Ed.). (1995). *Toxicología avanzada*. Madrid, España: Díaz de Santos.
Recuperado el 01/12/2019 de <https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=opad2FFk9g0C&oi=fnd&pg>

=PA359&ots=V75vRkQfU_&sig=oexnR8CvKx-jEZwcGb6SL2R8sOA&redir_
esc=y#v=onepage&q&f=false

Saló, E., Abril, J., Adell, T., Cebrià, F., Eckelt, K., Fernández-Taboada, E., ... Rodríguez-Esteban, G. (2009). Planarian regeneration: achievements and future directions after 20 years of research. *Int. J. Dev. Biol.* 53, 1317-1327. doi: 10.1387/ijdb.072414es

Saló, E. y Baguña, J. (2002). Regeneration in planarian and other worms: new findings, new tools, and new perspectives. *Journal of Experimental Zoology*, 292, 528-539. doi: 10.1002/jez.90001

Sánchez, A. (2000). Regeneration in the metazoans: why does it happen? *Bioessays*, 22, 578-590

Sánchez, A., Newmark, P., Robb, S. y Juste, R. (2002). The *Schmidtea mediterranea* database as a molecular resource for studying platyhelminthes, stem cells and regeneration. *Development*, 129, 5659-5665. doi: 10.1242/dev.00167

Oviedo, N., Newmark, P. y Sánchez, A. (2003). Allometric scaling and proportion regulation in the freshwater planarian *Schmidtea mediterránea*. *Developmental dynamics* 226, 326–333. doi: 10.1002/dvdy.10228

Yoon, S., Miller, E., He, Q., Do, P. y Chang, C. (2017). A bright and specific fluorescent sensor for mercury in water, cells, and tissue. *Angew. Chem. Int., (2007)46*, 6658–6661. doi: 10.1002/anie.200701785

- Wei, Q., Nagi, R., Sadeghi, K., Feng, S., Yan, E., Jung, S., ... Ozcan, A. (2014). Detection and spatial mapping of mercury contamination in water samples using a smart-phone. *ACS Nano*, 8(2), 1121-1129. doi: 10.1021/nm406571t
- Wyatt, L., Permar, S., Ortiz, E., Berky, A., Woods, C., Amouou, G., ... Pan, W. (2019). Mercury exposure and poor nutritional status reduce response to six expanded program on immunization vaccines in children: an observational cohort study of communities affected by gold mining in the peruvian amazon. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 16(638); 1-22. doi:10.3390/ijerph16040638
- Wylie, D., Carlson, L., Carlson, R., Wagner, F. y Schuster, F. (1991). Detection of mercuric ions in water by Elisa with a mercury-specific antibody. *Analytical Biochemistry*, 194, 381-387. doi: 10.1016/0003-2697(91)90245-O

11. Anexos

Tablas

Tabla 1. Tamaño de muestra en el bioensayo con individuos enteros (n = 45)

Medio	Número de individuos
Normal	11
0.03 ppm de HgCl ₂	17
0.08 ppm de HgCl ₂	17

Tabla 2. Tamaño de muestra en el bioensayo con individuos diseccionados (n = 18)

Medio	Número de individuos
Normal	9
0.03 ppm de HgCl ₂	9

Tabla 3. Mortandad de especímenes enteros expuestos a un medio normal, a 0.03 ppm y 0.08 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Medio	Mortandad (%)
Medio normal (n=11)	0 (0 %) (6 d)
0.03 ppm de HgCl ₂ (n=17)	9 (53 %) (3 d)
0.08 ppm de HgCl ₂ (n=17)	17 (100 %) (1 d)

Tabla 4. Promedio de la longitud (mm) de especímenes enteros expuestos a un medio normal y a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Día	Medio normal	0.03 ppm de HgCl ₂
1	10.18 (n=11)	11.00 (n=17)
2	9.95 (n=11)	10.44 (n=9)
3	9.77 (n=11)	10.94 (n=8)
4	10.00 (n=11)	10.63 (n=8)
6	9.32 (n=11)	10.50 (n=8)

Tabla 5. Promedio de la velocidad de especímenes enteros expuestos a un medio normal y a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Día	Medio normal	0.03 ppm de HgCl₂
1	55.3 (n=11)	33.1 (n=17)
2	50.8 (n=11)	21.6 (n=9)
3	63.8 (n=11)	34.8 (n=8)
4	53.9 (n=11)	52.9 (n=8)
6	67.4 (n=11)	75.5 (n=8)

Tabla 6. Promedio de la longitud de especímenes enteros en medio normal durante 10 días luego de haber sido expuestos al tratamiento de 0.03 ppm de HgCl₂ por 6 días

Día	Longitud (mm)
0	10.25 (n=8)
2	10.25 (n=8)
4	9.81 (n=8)
6	9.88 (n=8)
8	9.56 (n=8)
10	9.63 (n=8)

Tabla 7. Promedio de la velocidad de especímenes enteros en medio normal durante 10 días luego de haber sido expuestos al tratamiento de 0.03 ppm de HgCl₂ por 6 días

Día	Velocidad (mm/min)
0	82.25 (n=8)
2	71.25 (n=8)
4	65.38 (n=8)
6	63.50 (n=8)
8	61.50 (n=8)
10	60.88 (n=8)

Tabla 8. Promedio de la longitud de especímenes cortados expuestos a un medio normal y 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

Día	Medio normal	0.03 ppm de HgCl₂
0	9.00 (n=9)	8.11 (n=9)
1	9.11 (n=9)	8.56 (n=9)
2	9.17 (n=9)	8.67 (n=9)
3	9.33 (n=9)	8.44 (n=9)
4	9.50 (n=9)	8.72 (n=9)
6	10.00 (n=9)	9.50 (n=9)

Figuras



Figura 1. Ubicación del lugar de muestreo

Fuente: Elaboración propia con datos del Instituto Geográfico Nacional (SN)

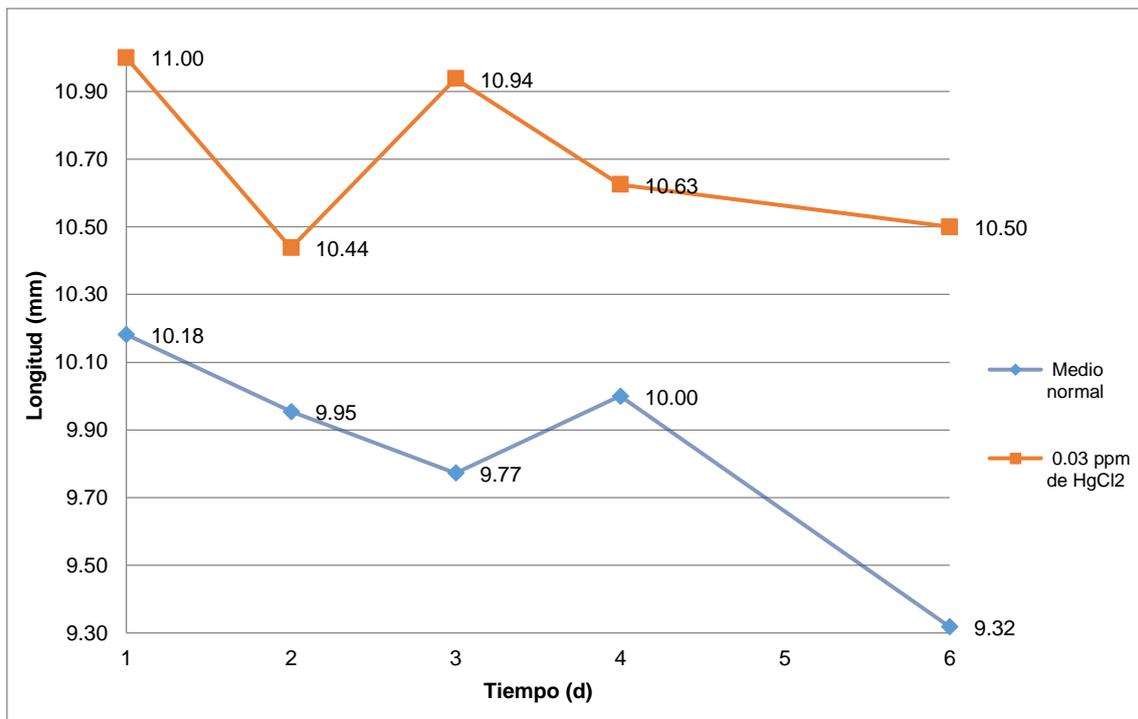


Figura 2. Promedio de la longitud de especímenes enteros expuestos a un medio normal y a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

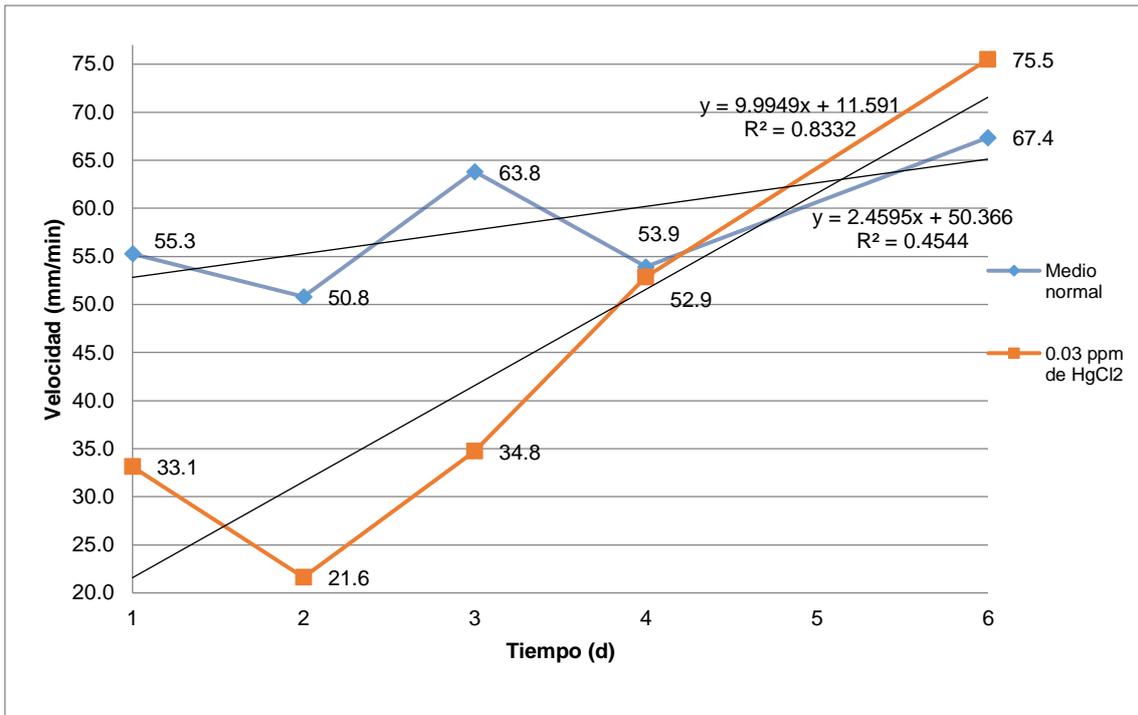


Figura 3. Promedio de la velocidad de especímenes enteros expuestos a un medio normal y a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

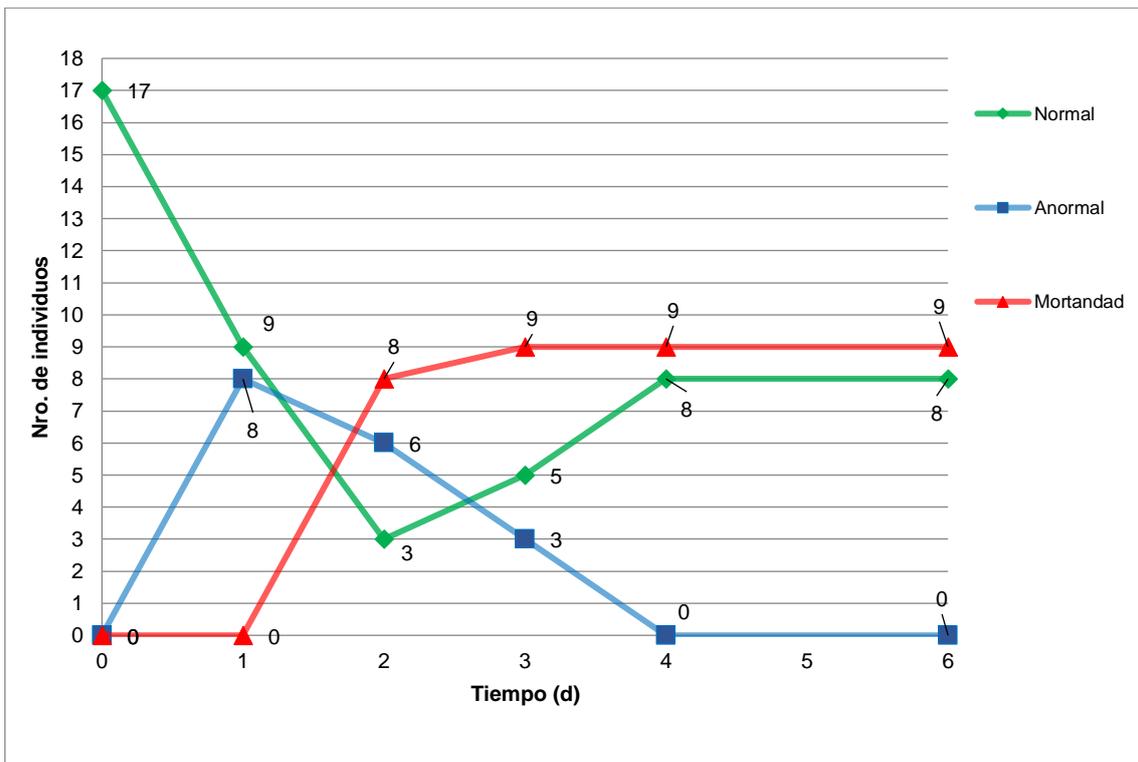


Figura 4. Tipo de movimiento de especímenes enteros expuestos a 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días

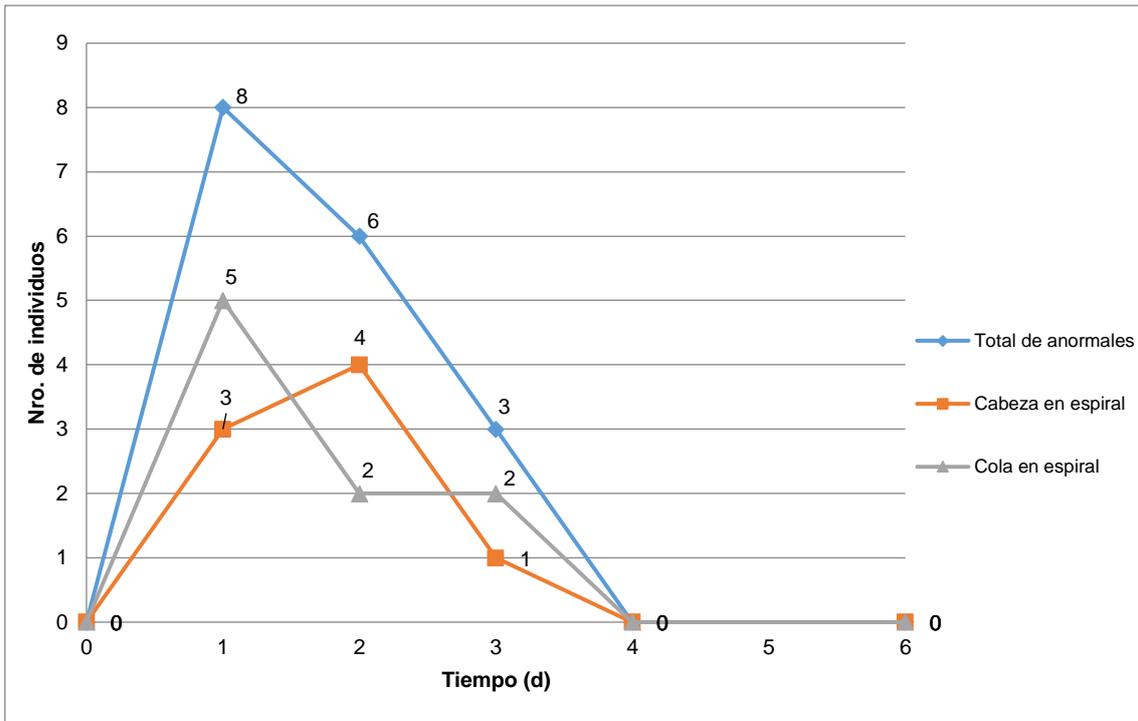


Figura 5. Tipo de movimiento anormal de especímenes enteros expuestos a 0.03 ppm de $HgCl_2$ durante 6 días

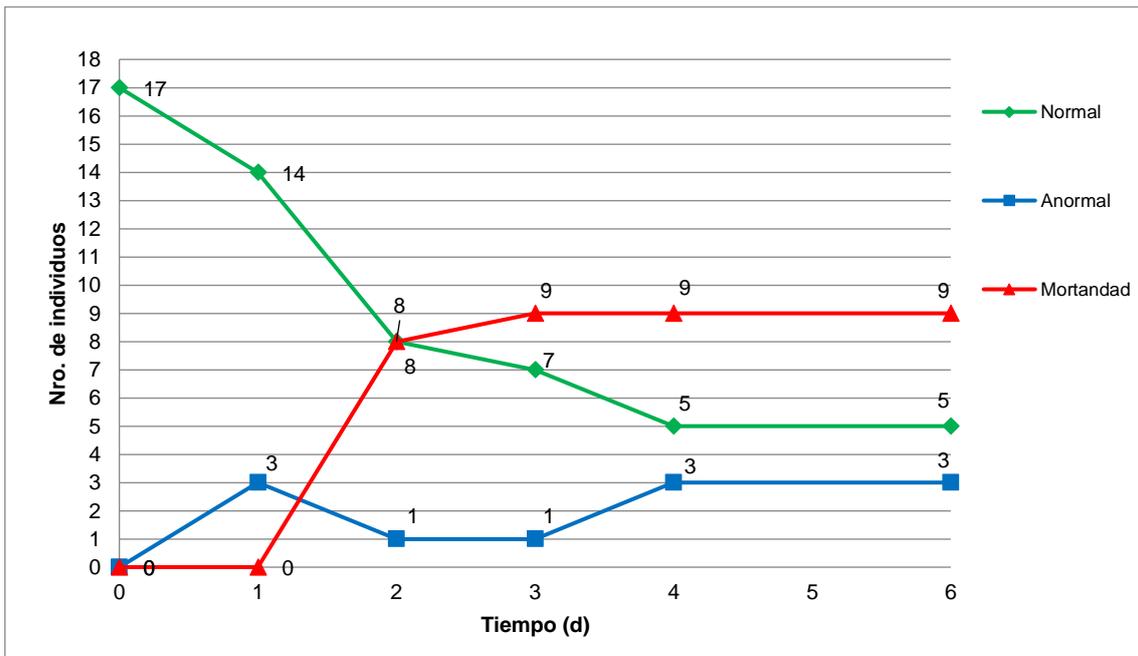


Figura 6. Tipo de morfología externa de especímenes enteros expuestos a 0.03 ppm de $HgCl_2$ durante 6 días

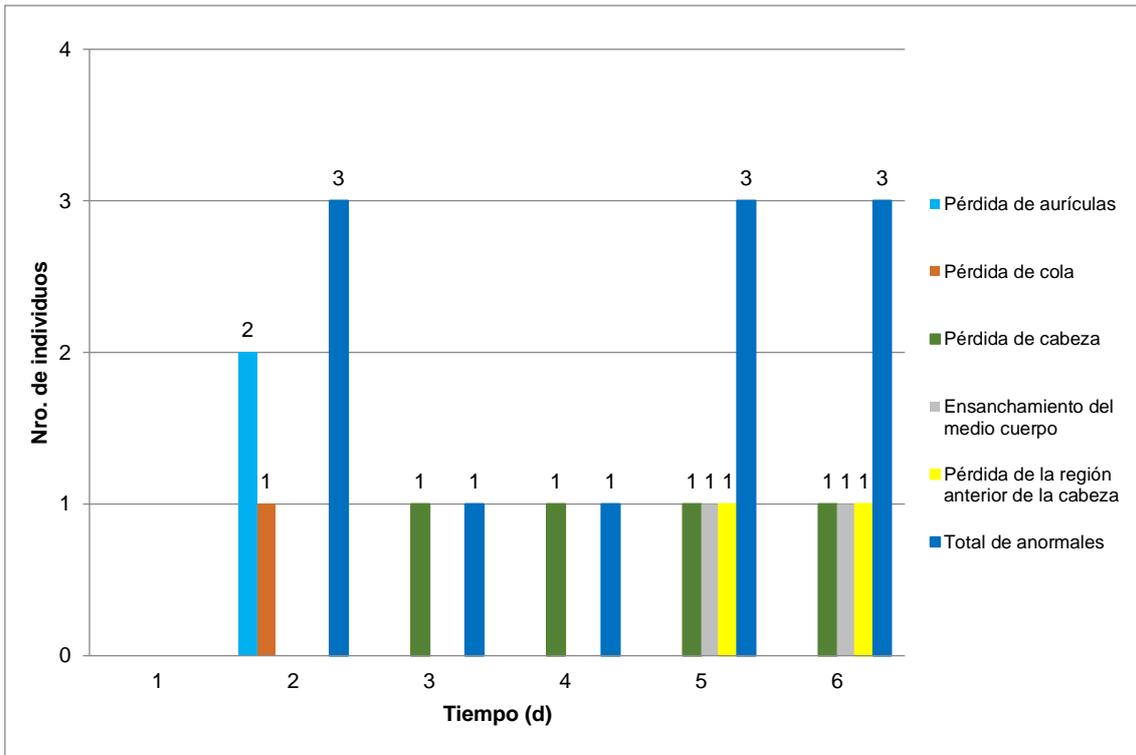


Figura 7. Tipo de alteración de la morfología externa de especímenes enteros expuestos a 0.03 ppm de HgCl_2 durante 6 días

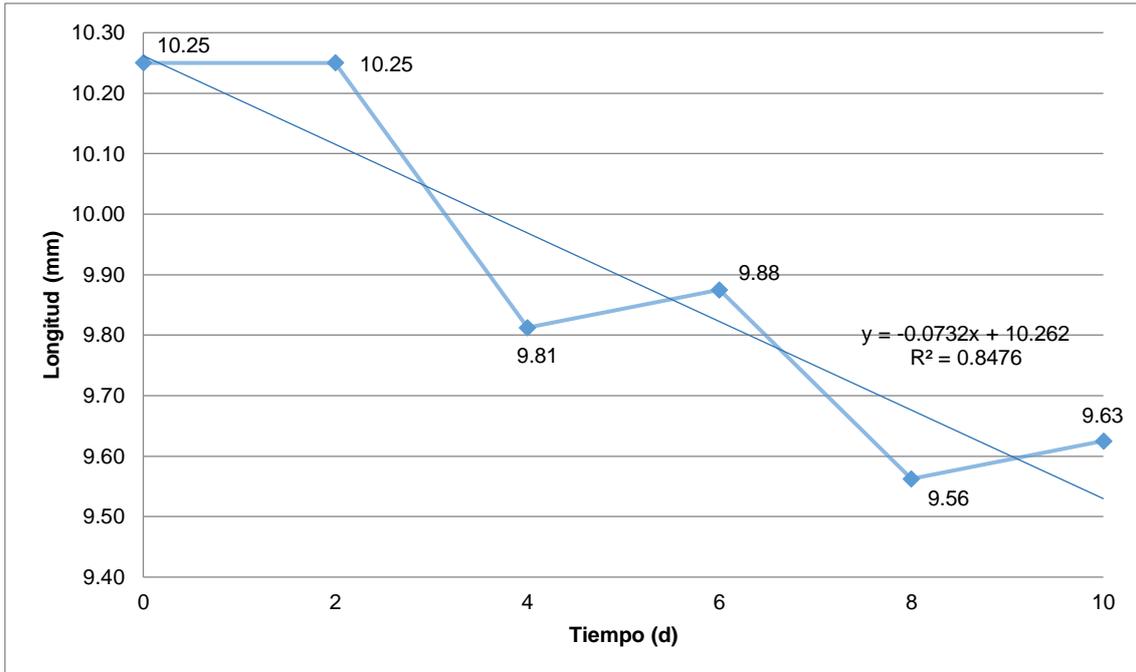


Figura 8. Promedio de la longitud de especímenes enteros en medio normal durante 10 días luego de haber sido expuestos al tratamiento de 0.03 ppm de HgCl_2 por 6 días

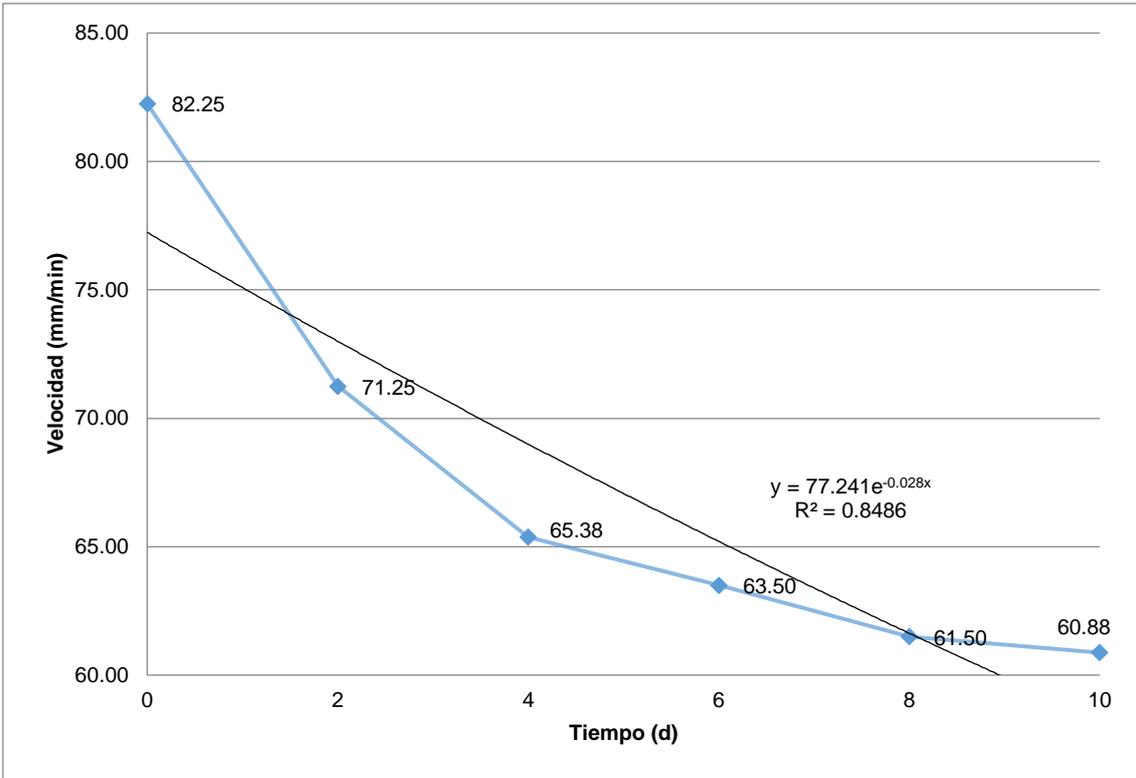


Figura 9. Promedio de la velocidad de especímenes enteros en medio normal durante 10 días luego de haber sido expuestos 0.03 ppm de HgCl₂ por 6 días

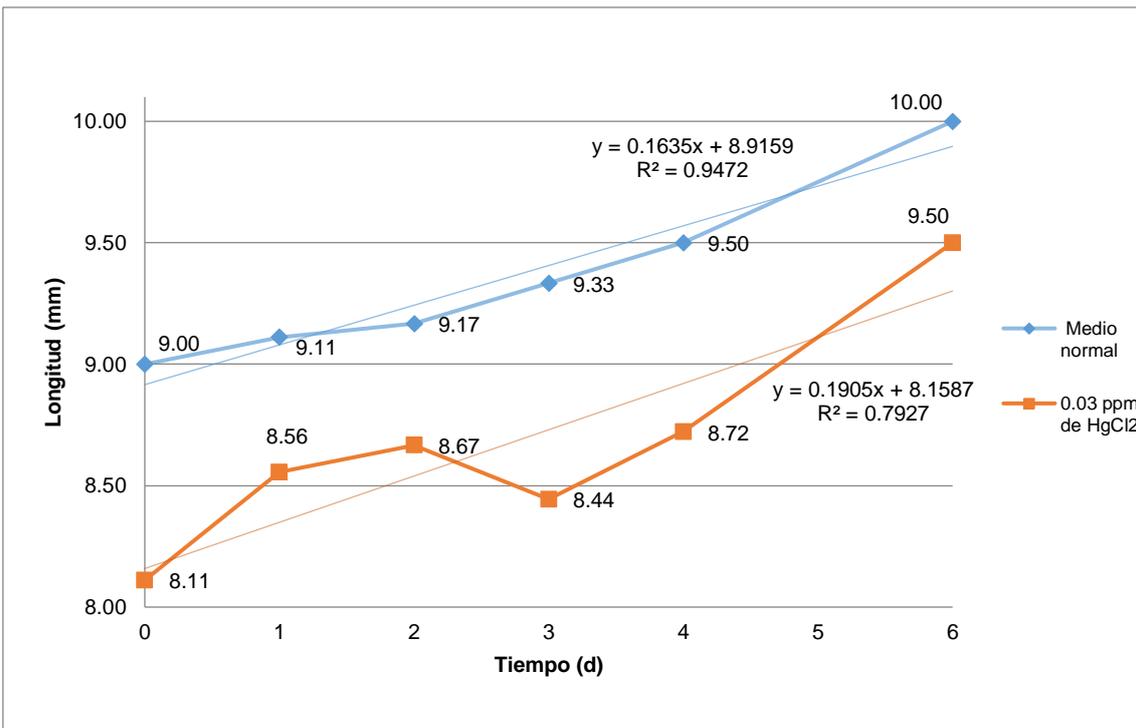


Figura 10. Promedio de la longitud de especímenes cortados expuestos a un medio normal y 0.03 ppm de HgCl₂ durante 6 días