



# 3P

## Ludiplancton: investiga, crea y juega

**Biól. Leonela Chávez Flores**

**Biól. María Teresa Urbina Hidalgo**

**Dr. Jesús Alvarado Flores**

Unidad de Ciencias del Agua

### Descripción

Aprenderemos los principios básicos de la **toxicología acuática** empleando el microcrustáceo *Artemia franciscana*. Las y los estudiantes evaluarán la **toxicidad** aguda de productos de uso personal como pasta de dientes, jabón y medicamentos, entre otros; asimismo, investigarán y jugarán con la ciencia.

### Objetivo general

Las y los estudiantes realizarán experimentos de toxicología variando concentraciones de exposición de productos de uso cotidiano en el microcrustáceo *A. franciscana*.



## Materias afines

- Biología.
- Conservación del medio ambiente.
- Impacto de la ciencia y la tecnología.

## ¿Qué vas a aprender?

- Las etapas del método científico.
- Cultivo de organismos acuáticos.
- Medir la toxicidad de sustancias de uso cotidiano.
- Sobre contaminantes emergentes.



### Pregunta inicial

¿Los productos de uso diario personal causan daño a la vida acuática de los ecosistemas costeros?



## PANORAMA GENERAL DEL TEMA

Hace muchos años, Paracelsus escribió algo muy importante en los estudios de la toxicología ambiental (entre 1452 a 1519): «La dosis hace el efecto», es decir, existen sustancias tóxicas que a dosis muy bajas no te producen un daño, pero a dosis altas lo hacen y pueden ser devastadoras para la salud. Así se hacen los fármacos y otras sustancias químicas que consumimos a diario; las dosis son exactas y estas son propuestas por investigadores e investigadoras, científicos y científicas que realizaron estudios para descubrir si sus efectos son adversos (o malos). En el presente capítulo podrás descubrir la metodología para realizar estos experimentos (Jaramillo-González et al., 2006; Díaz-Báez et al., 2008).

Cuando escuchas la palabra «toxicidad», ¿qué te viene a la mente? Quizás te resulte familiar la advertencia que nos hicieron alguna vez: «¡Ey, no le des chocolate al perro!», esto debido a que les resulta tóxica la teobromina contenida en las semillas de cacao. O como cuando te piden con una melodiosa voz: «¡Pásame el cloro!», y leíste en la etiqueta: «Manténgase fuera del alcance de los niños», conscientes que, de beberse, resultaría en una visita al hospital,

¿cierto? Pues bien, para continuar familiarizándote con la toxicología, hagamos un breve recorrido por sus inicios.

### Inicios de la toxicología

En la década de los treinta del siglo XX (más o menos cuando tus bisabuelos eran jóvenes), se observó la muerte masiva de organismos acuáticos cercanos a las industrias, lo que llevó a la realización de pruebas utilizando *Carassius auratus* (carpa dorada, para las amistades). Los concluyentes resultados basados en experimentos y análisis estadísticos revelaron que las industrias vertían sustancias tóxicas en los cuerpos de agua, afectando la vida silvestre y... gracias a que la ciencia es un mundo de conocimiento, no fue lo único que se descubrió. Haciendo pruebas y modelos matemáticos sencillos y útiles con otras especies y sustancias, algo más se reveló: bajo condiciones iguales de **concentración** de contaminantes había organismos (como las truchas) que «colgaban los tenis» y otras (como las carpas) que vivían para contarlo, por lo que se descubrió que diferentes especies tenían niveles de sensibilidad distintos.



Eso no fue todo; tiempo después, en la época de tus abuelos, en la década de los sesenta, surgieron los agroquímicos cuya función era la eliminación de insectos que dañaban los cultivos de maíz, frijol, cebolla, chile habanero y otros. Sin embargo, hubo consecuencias no planeadas; se observaron efectos nocivos en la vida silvestre, dando origen a la ecotoxicología, un área de investigación en la cual personas como tú y yo estudian los efectos de los contaminantes en los ecosistemas acuáticos y terrestres.

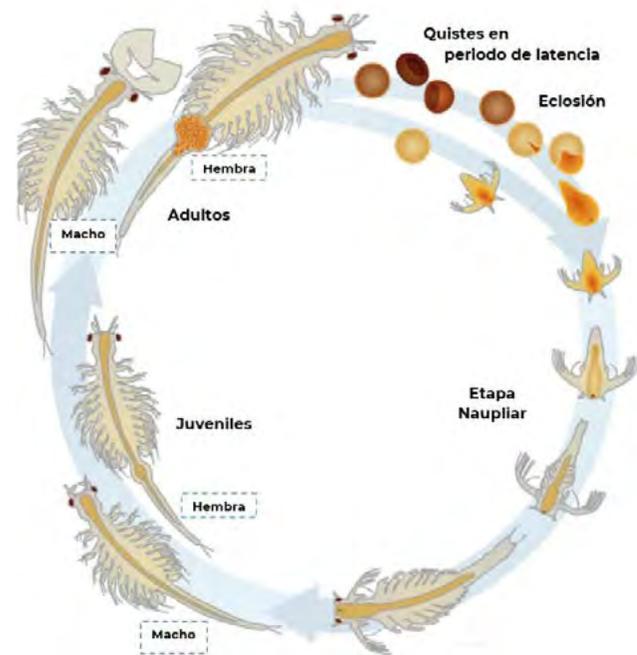
### Pruebas de toxicidad

Como bien te imaginarás, al realizar pruebas de toxicidad se busca obtener resultados confiables para determinar si las sustancias utilizadas en actividades agrícolas, acuícolas, industriales y urbanas son tóxicas. Para ello se emplea un detector o indicador de fácil cultivo y bajo costo, como el microcrustáceo *Artemia franciscana*.

Este crustáceo se caracteriza por sus numerosos segmentos y apéndices, que utiliza para alimentarse y nadar en aguas salobres de todo el mundo. En Las Coloradas (Yucatán) es especialmente común. Su morfología permite diferenciar fácilmente entre machos y hembras, ya que a medida que los machos crecen, sus antenas se transforman en pinzas que utilizan durante el apareamiento (en biología, esta diferenciación se conoce como dimorfismo sexual). Además, se reproduce de manera ovípara, lo que es crucial para su supervivencia, ya

que cuando los cuerpos de agua se secan, mueren y sus huevos o **quistes** pueden resistir en estado de latencia (en biología, diapausa) durante un máximo de 25 años hasta eclosionar con las primeras lluvias o mareas altas.

Así, las artemias que cultivarás pasarán por diferentes etapas de desarrollo, llamadas etapas naupliar. En la etapa juvenil desarrollarán formas más complejas y en la adulta darán lugar a una nueva generación, como puedes ver en la **Figura 1**, ¡observa!



**Figura 1.** Diagrama del ciclo de vida de *Artemia franciscana* (Imagen tomada de internet del sitio web del Centro de Aprendizaje de Ciencias Genéticas, 2014).



## PRESENTACIÓN DEL PROYECTO

Primero eclosionarás artemias de quistes comerciales; ellas serán tus organismos de prueba para múltiples experimentos. Después conseguirás diversas sustancias tóxicas de interés y prepararás diluciones de los **tóxicos** que usarás en las artemias.

Por último, cuantificarás la cantidad de vivos y muertos en cada experimento para estimar la concentración o dilución que mata al 10%, 50% y 100% de las artemias. Sigue las instrucciones. Relaciona los resultados con la realidad. ¡Manos a la obra!



## DESARROLLO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



### Actividad 1. Preparación del agua de mar



#### Pregunta de investigación

¿Cómo se prepara el agua de mar para la eclosión de la *A. franciscana*?



#### Desarrollo

1. Verter en el contenedor un litro de agua de garrafón.
2. Agregar 35 gramos de sal marina natural o su equivalente, una cucharada colmada.
3. Mezclar con la cuchara hasta que la sal se disuelva por completo.
4. Agregar el gramo de bicarbonato de sodio o su equivalente, 5 pizcas.
5. Mezclar nuevamente.



#### Objetivo

Preparar el medio acuático **salino** para la eclosión de los quistes de *A. franciscana*, como se observa en la **Figura 2**.



#### Lista de materiales

- 1 litro de agua de garrafón.
- Contenedor con capacidad de 1 litro para la preparación de la mezcla.
- 35 gramos de sal marina natural o una cucharada colmada, preferiblemente sin aditivos ni yodo, ya que pueden afectar la composición química del agua de mar artificial (se puede adquirir en cualquier mercado local).
- Cuchara.
- 1 gramo de bicarbonato de sodio (aproximadamente 5 pizcas).



#### Nota

Asegúrate de tapar bien el recipiente donde hiciste la mezcla una vez que la terminaste, para que no se derrame. Etiquétalo muy bien, esta es tu solución de eclosión de quistes y, además, será la solución para tus diluciones de tus pruebas de toxicidad.



**Figura 2.** Preparación del medio salino (Imagen elaborada en BioRender.com por Chávez-Flores, 2023).

### Lo que debes saber

La *A. franciscana* es un microorganismo que vive en las zonas costeras de la península de Yucatán, por ello es necesario preparar un medio salado, como el del mar, para mantenerla viva y con buena oxigenación porque respiran en el agua.



### Para concluir

Ya cuentas con el medio suficiente para eclosionar tus organismos y para las pruebas de toxicidad; sin embargo, es indispensable que prepares por lo menos 3 litros más porque vas a necesitarlos para hacer muchos experimentos.



## Actividad 2. Eclosión de los quistes de *Artemia franciscana*



### Pregunta de investigación

¿Dónde y cómo eclosionan los quistes de *A. franciscana*?



### Objetivo

Eclosionar los quistes de *Artemia franciscana* (observa la **Figura 3**).



### Lista de materiales

- De 2 a 3 gramos (o una cucharada no colmada) de quistes de *Artemia franciscana* por litro de agua.
- Aireador con manguera y difusor (el que se usa para oxigenar las peceras, lo venden en los acuarios o en tiendas en línea).
- Una lámpara de luz artificial o colocar en un lugar expuesto a la luz solar.
- Una lupa o también si tu escuela cuenta con un microscopio estereoscópico, solicítalo y úsalo.



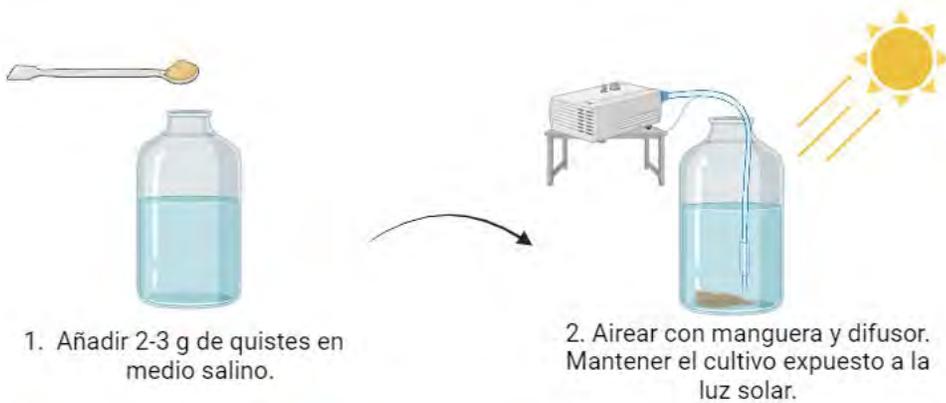
**Nota**



Los quistes de *A. franciscana* pueden comprarse en acuarios locales o en sitios de internet en \$80.00 pesos en promedio, o tiendas veterinarias con productos para peceras; es común que los tengan porque los utilizan como alimento vivo para peces.

**Desarrollo**

1. Verter de 2 a 3 gramos de quistes de *Artemia franciscana* en el medio que preparaste en la Actividad 1.
2. Airear el medio con la bomba de aire; la aireación debe ser suave, no exagerada.
3. Mantener el medio en un lugar expuesto a la luz solar; en el interior, trata que se mantengan unos 25 °C.
4. Esperar 24 horas para su eclosión y otras 24 horas más para que alcancen la adultez.
5. Observar con una lupa su desarrollo.
6. También puedes seguir las instrucciones que están en las etiquetas de los quistes que adquiriste en el acuario de tu preferencia.
7. Se vale comprar artemias vivas para tus experimentos, si así las consigues en tu acuario. Algunos acuarios las venden vivas y puedes usarlas para tus experimentos.



1. Añadir 2-3 g de quistes en medio salino.

2. Airear con manguera y difusor. Mantener el cultivo expuesto a la luz solar.



3. A las 24 horas empezarán a eclosionar.

4. A las 48 horas alcanzarán su etapa juvenil.

**Figura 3.** Eclosión de los quistes (Imagen elaborada en BioRender.com, por Chávez-Flores, 2023).



### Lo que debes saber



A veces no eclosiona el 100% de los quistes que venden, tal vez solo el 80% o 15% si el producto se ha humedecido (y en ese caso tendrás que regresarlo al proveedor). Sé paciente e inténtalo varias veces hasta que tengas los suficientes organismos para tus experimentos. Recuerda que, si no cuentas con organismos vivos, no es posible continuar con la siguiente sección donde se harán los experimentos.

### Para concluir

En este momento debes contar con suficientes organismos para realizar las pruebas de toxicidad. Si piensas que necesitas más, no lo dudes y eclosiona todos los que puedas. Incluso puedes darles de comer un poco de microalga; la venden líquida como suplemento alimenticio y se llama *Chlorella* sp. Solo alimenta a las artemias que no vayas a usar para las pruebas.



## Actividad 3. Pruebas de toxicidad



### Pregunta de investigación

¿Qué pasará si expongo a la artemia a productos de uso cotidiano?



### Objetivo

Evaluar qué tan tóxicos son los productos de uso cotidiano en *Artemia franciscana*.



### Lista de materiales

- Pasta de dientes, bloqueador solar, bebidas energizantes, jarabe, y medicamentos que personas adultas puedan donarte.
- Contenedores limpios de 100 ml (por ejemplo, frascos de tapa roja que se venden en las farmacias que se usan en los análisis clínicos; son estériles y están aforados, lo que facilitan su uso en las medidas para preparar las diluciones). En total necesitas 8 frascos: 1 frasco para colocar el tóxico, 1 frasco

para el medio salado y 1 frasco para el experimento control; 5 frascos para las diluciones del tóxico. Al término del primer experimento puedes lavarlos con agua y jabón, dejarlos secar e iniciar otro experimento una vez que se registraron los datos.

- Etiquetas autoadheribles que sean fáciles de retirar con agua y jabón.
- Cinta blanca de aislar para usarla como etiquetas; la consigues fácilmente en las ferreterías.
- Pluma o plumón permanente.
- Teléfono inteligente.
- Pipeta Pasteur desechable; las venden en las farmacias o en línea a precios muy accesibles.

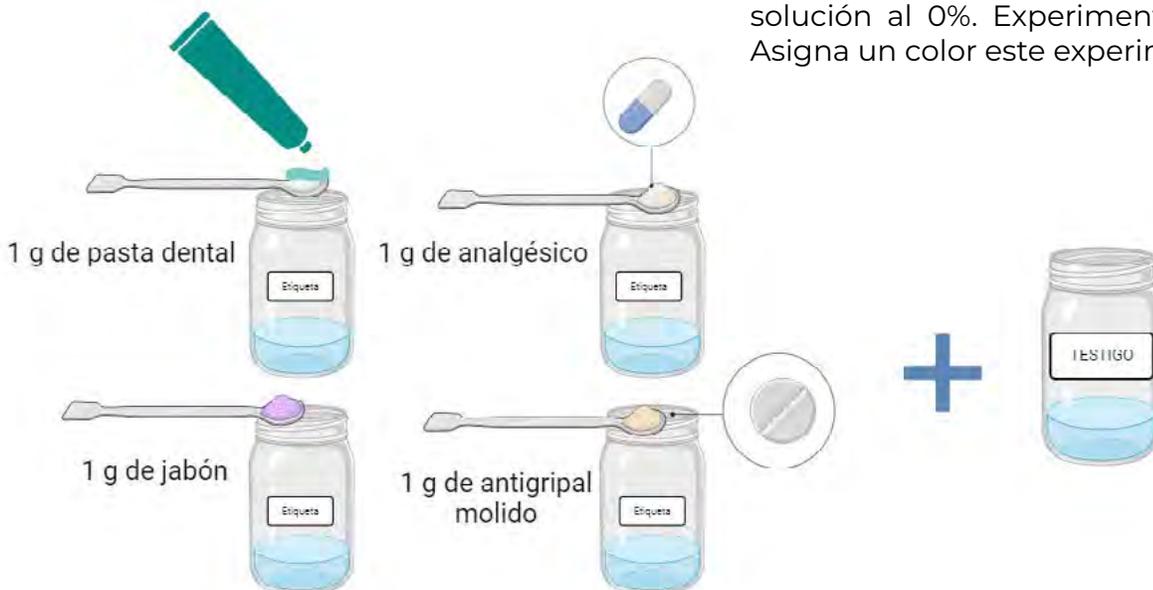


### Desarrollo

1. Selecciona el tóxico de tu preferencia y asigna un color a cada experimento, este color te ayudará a realizar el gráfico con listones de colores en la Actividad 4 (gráfico CL<sub>50</sub>).



2. Si el tóxico es líquido, toma 1 ml (por ejemplo, perfume, bebida energizante); si es sólido o cremoso, pesa 1 gramo (por ejemplo, bloqueador solar, medicamentos). Agrega el mililitro o el gramo al frasco de tapa roja y cierra.
3. Etiqueta el frasco con el nombre del tóxico.
4. Ahora, destapa y agrega 99 ml de medio salado que preparaste anteriormente en la Actividad 1. Esta es tu solución *stock* de trabajo (testigo, como se observa en la **Figura 4**). En total tienes un frasco con 100 ml aproximadamente.
5. Ahora es tiempo de realizar tus diluciones de la siguiente manera.
  - Toma un frasco y coloca 10 ml de la solución testigo. Etiqueta el frasco como una solución al 100%. Experimento 1. Asigna un color este experimento.
  - Toma un frasco y coloca 7.5 ml de solución testigo y 2.5 ml de medio salado. Etiqueta el frasco como una solución al 75%. Experimento 2. Asigna un color este experimento.
  - Toma un frasco y coloca 5 ml de solución testigo y 5 ml de medio salado. Etiqueta el frasco como una solución al 50%. Experimento 3. Asigna un color este experimento.
  - Toma un frasco y coloca 2.5 ml de solución testigo y 7.5 ml de medio salado. Etiqueta el frasco como una solución al 25%. Experimento 4. Asigna un color este experimento.
  - Toma un frasco y coloca 1 ml de solución testigo y 9 ml de medio salado. Etiqueta el frasco como una solución al 10%. Experimento 5. Asigna un color este experimento.
  - Toma un frasco y coloca 10 ml de medio salado; no se colocará solución testigo. Etiqueta el frasco como una solución al 0%. Experimento control. Asigna un color este experimento.



**Figura 4.** Preparación de las pruebas de toxicidad (Imagen elaborada en BioRender.com, por Chávez-Flores, 2023).



6. Una vez realizadas las diluciones del tóxico, agrega 10 artemias a cada frasco; asegúrate que estén vivas. Para ello, usa una pipeta Pasteur de plástico, deja los frascos tapados y en reposo por 24 horas.
7. Cuando transcurran las 24 horas, cuantifica el número de organismos vivos y muertos en cada experimento.
8. Debes observar a los individuos y comparar su movilidad contra el control. Cuenta cuántos hay vivos y cuántos hay muertos, y expresa tus resultados en porcentaje de **mortalidad**, es decir, si ves 5 vivos y 5 muertos, tienes un 50% de mortalidad debido al tóxico. El control es tu referencia, en el nadie muere, o en lenguaje científico, aceptamos un 10% de mortalidad de los controles.
9. Tomar fotos y videos, y escribir tus conclusiones.



### Nota

Si todos mueren, hay que repetir el experimento y cambiar las dosis de exposición, es decir, la cantidad de tóxico que agregas. En vez de agregar 1 gramo, usa 0.5 o 0.25 gramos; en el caso contrario, donde todas las artemias estén vivas, aumenta la dosis, es decir, usa 2 o 3 gramos y repite todo desde el paso 3. La cantidad de experimentos que realices te dará indicios, resultados sobre la toxicidad de una sustancia.



### Lo que debes saber

Una forma de asegurar que tus resultados son confiables en cualquier investigación o experimento, es llevar a cabo «buenas prácticas» en el procedimiento. Entonces, ten en cuenta lo siguiente:

- Asegúrate de tener el área de trabajo limpia y de uso exclusivo para la actividad.
- Ten listo todo el material que vayas a utilizar antes de iniciar.
- ¡Lávate bien las manos! Todas las veces que sea necesario.
- Todos los recipientes que vayan a estar bajo observación deben estar debidamente rotulados para que no haya posibilidad de confusión.
- Si se utiliza algún instrumento accesorio, como pinzas o pipetas, estas deben ser específicas para cada muestra para evitar la contaminación cruzada de muestras.



## Para concluir

Ahora cuentas con resultados de toxicidad, porcentajes de mortalidad para cada concentración y cada tóxico. Es momento de hacer análisis de datos. Para ello identifica cuál fue la sustancia más y menos tóxica. Para ello, ve a la Actividad 4.

Recuerda que la mortalidad o el porcentaje de mortalidad está relacionado con la

dosis de exposición. Se espera que entre más alta es la dosis, se muere el 100% de las artemias; a veces, algunos tóxicos no son así, unas sustancias son más peligrosas que otras. Entonces esa es tu tarea, identificar cuáles son las sustancias más tóxicas para tus organismos de prueba. Y con ello, comprender y tomar conciencia de la contaminación ambiental del agua y los ecosistemas acuáticos.



## Actividad 4. Gráfica de CL<sub>50</sub> y Juego Zooplanktástico



### Pregunta de investigación

¿Cómo grafico mis valores de porcentaje de mortalidad? ¿Existen otras especies indicadoras?



### Objetivo

Realizar un gráfico del porcentaje de mortalidad y jugar el Juego Zooplanktástico con especies de microorganismos, para conocer la riqueza de especies que pueden usarse como indicadoras.



### Lista de materiales

- Computadora.
- Impresora.
- Mesa o escritorio.
- Tijeras.
- Cartón.
- Papel cascarón u hojas blancas.
- Pegamento.
- Regla.
- Listones de colores.
- Clavijas de presión de colores para corcho o cartón.



### Desarrollo

1. Juego Zooplanktástico.
  - Imprime el siguiente archivo, es un *link* de descarga permanente (<https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/sitios/Divulgacion/Comics/2024/Juego-Zooplanktastico.pdf>). En él encontraras el Juego Zooplanktástico creado por el Dr. Jesús Alvarado-Flores, editado por Norma Marmolejo, en el cual podrás seguir todas las instrucciones.
2. Gráfico de porcentaje de mortalidad.
  - Corta un pedazo de cartón de unos 50 x 70 cm, fórralo con hojas blancas.
  - Con la ayuda de una regla, dibuja un cuadrante de un plano cartesiano: ejes X y Y. En el eje X estará el porcentaje de mortalidad, en el eje Y la dilución del tóxico; de esta manera, podrás identificar en el plano cartesiano los porcentajes de mortalidad de cada experimento, como se muestra en la **Figura 5**. Usa listones de colores y las clavijas de presión.



- Identifica a qué concentración está el 50% de mortalidad y anótalo, también al 10% y al 100%; este es tu tablero de toxicidad. Cada tóxico que pruebes, gráfícalo allí y entenderás por qué una sustancia es más peligrosa que las otras.



**Figura 5.** Tablero de toxicidad de la mortalidad de los organismos expuestos a diferentes diluciones del tóxico. En este tablero se graficaron 8 tóxicos (diseñado y realizado por: Isabel Martínez Fabro y Karimme Elguera Trejo [Talento CICY 2023/Secundaria]).

## CONCLUSIÓN DEL CAPÍTULO

Para evaluar la toxicidad de las sustancias se utilizan bioindicadores, como el microcrustáceo *Artemia franciscana*, que es fácil de cultivar y se desarrolla atravesando distintas etapas antes de convertirse en adulto.

**Nota**

Imprime el juego en opalina y a color para tener una mejor experiencia.



**Lo que debes saber**

Todas las imágenes que contiene el juego tiene derechos de autor y fueron publicadas por científicos y científicas, ilustradas y fotografiadas por ellos y ellas mismas. En las cartas están sus nombres; algunos descubrieron nuevas especies.



## Para concluir

Usa tu imaginación y con tus amistades o familia crea un juego divertido de toxicología o de especies de zooplancton y compártelo con nosotros. Escríbeme al correo electrónico: [jesus.alvarado@cicy.mx](mailto:jesus.alvarado@cicy.mx) y podemos diseñarlo y registrarlo para futuros capítulos.

A través de la investigación, buscamos obtener resultados confiables que nos indiquen los posibles efectos tóxicos de diversas sustancias en el medio ambiente.



## SOBRE LOS AUTORES Y AUTORAS

El **Dr. Jesús Alvarado-Flores** es un investigador originario de Aguascalientes. Sus áreas de estudio son la ecotoxicología y la biología del zooplancton. Coordina el Laboratorio de Ecotoxicología en la Unidad de Ciencias del Agua del CICY. Su objetivo es producir bases de datos sobre la diversidad de especies de zooplancton en la península de Yucatán y establecer indicadores para reconocer la conectividad biológica y la contaminación del agua. Más información sobre él, en: <https://www.cicy.mx/unidad-de-ciencias-del-agua/investigador/jesus-alvarado-flores>.

La **Biól. María Teresa Urbina Hidalgo** es originaria de Costa Rica. Actualmente realiza su maestría en el CICY en torno a la importancia de la participación de la comunidad en la protección de los ecosistemas, enfo-

cando su trabajo en el Área Natural Protegida Estatal Laguna Manatí. A lo largo de su carrera ha adquirido una sólida base de conocimientos y experiencias en la administración de Áreas Protegidas. Su pasión y compromiso por la conservación ambiental la impulsan a explorar y compartir su amor por la ciencia y la naturaleza.

La **Biól. Leonela Chávez Flores** es originaria de Cancún, Quintana Roo. Actualmente realiza su maestría en el CICY. Su tema de investigación tiene un componente experimental que gira en torno a la realización de pruebas de toxicidad del agua subterránea en organismos de *Philodina* cf. *roseola*, un rotífero de agua dulce. Anteriormente, desempeñaba su profesión en el ámbito de la consultoría ambiental. Le gusta bucear y hacer senderismo en la selva.



## GLOSARIO

**Artemia franciscana:** organismo planctónico que mide de 8 a 12 mm de longitud en etapa adulta y 35 µm en la etapa naupliar. Presenta dimorfismo sexual. Generalmente habita en aguas salobres e hipersalinas, cuya concentración varía desde 5 g/L hasta 150 g/L. Es una especie originaria del continente americano.

**Prueba de toxicidad:** es la exposición controlada de organismos a sustancias puras o combinadas, lixiviados, extractos acuosos, aguas residuales industriales, municipales, agrícolas y aguas provenientes de cuerpos de agua, para evaluar su efecto tóxico.

**Tóxico:** es cualquier sustancia pura o combinada que, al entrar en contacto con un organismo, produce daños estructurales, alteraciones bioquímicas o fisiológicas o incluso la muerte, dependiendo de la concentración y del tiempo de exposición.

**Toxicidad:** capacidad intrínseca de una sustancia química para causar daño a los seres vivos, desde el organismo individual hasta el ecosistema.

**Toxicología acuática:** es el estudio cualitativo y cuantitativo de los efectos adversos producidos por productos químicos y materiales antropogénicos sobre los organismos acuáticos.



**Medio de cultivo:** método para la multiplicación de microorganismos en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado. Un cultivo es empleado como un método fundamental para el estudio de microorganismos y su crecimiento bajo distintas condiciones.

**Concentración:** cantidad de una sustancia química presente en el medio (aire, agua o suelo) expresada en unidades de masa de la sustancia por unidad de masa o volumen del medio.

**Mortalidad:** tasa de muertes producidas en una población durante un tiempo dado, en general o por una causa determinada.

**Quiste:** es un estado de desarrollo embrionario en etapa de gástrula, protegido por una cubierta constituida por tres estructuras: corión, membrana cuticular externa y cutícula embrionaria. Los quistes tienen una masa de 2.8 a 4  $\mu\text{g}$ . Miden 200 a 300  $\mu\text{m}$  y son de color marrón claro. Cuando están deshidratados tienen la apariencia de balones desinflados y al hidratarse se tornan esféricos.

**Salinidad:** es la cantidad total de materia sólida en gramos disuelta en 1 kg de solución acuosa después de que todos los carbonatos se han convertido en óxidos, todos los bromuros y yoduros reemplazados por cloruros y toda la materia orgánica se ha oxidado.



## REFERENCIAS

- Centro de Aprendizaje de Ciencias Genéticas. (2014, 1° de octubre). *Ciclo de vida de los camarones de salmuera*. Recuperado el 15 de junio de 2023. <https://learn.genetics.utah.edu/content/gsl/artemia>
- Díaz-Báez, C., Pica-Granados, Y., & Ronco, A. (2008). *Ensayos Toxicológicos para la Evaluación de sustancias químicas en agua y suelo*. La experiencia en México. Ed. SEMARNAT.
- Jaramillo-González, F., Rincón-Juárez, A. R., & Posadas del Rio, F. A. (2006). *Toxicología básica*. Textos Universitarios UAA.