

Aplicación de biomarcadores como herramienta de evaluación de contaminación en efluentes de pisciculturas.

Application of biomarkers as a tool for assessment of contamination in fish farm effluents.

Carolina Soto

Programa Magister en Ciencias mención en Recursos Hidricos, Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia, Chile. Email:biologagestion@gmail.com

Resumen

El hombre ha introducido al ambiente una amplia gama de sustancias químicas que no están presentes en forma natural. Por esta razón existen múltiples factores estresores como la contaminación producto de las actividades productivas, que pueden ejercer efectos acumulativos y sinérgicos en el ambiente. En los ríos una de las razones de la degradación ambiental de sus sistemas acuáticos es producto de la expansión de las pisciculturas, puesto que sus efluentes son considerados como un potencial contribuyente de la alteración física como también química de los recursos hídricos; enriquecimiento de nutrientes en la recepción de las masas de agua, la eutrofización posterior ,cambios en la deriva de comunidades bentónicas y el estado ecológico perturbado según lo encontrado por publicaciones a nivel mundial .Es así como numerosos contaminantes ambientales (o sus metabolitos) han mostrado ejercer efectos tóxicos a nivel sub-letal, relacionados a un proceso llamado estrés oxidativo. Una manera de evaluar los efectos derivados de las descargas de los cultivos acuícolas como desechos de alimentos, fármacos (anestésicos, antibióticos, antiparasitarios), es través del uso de biomarcadores en comunidades bentónicas, más específicamente determinar el estrés oxidativo producido por las descargas de efluentes, mediante ensayos enzimáticos para medir las principales defensas antioxidantes del organismo como son la Catalasa (CAT), guayacol peroxidasa (POD) y

Glutathion reductasa (Gpx), estimando las consecuencias biológicas de este tipo de contaminación mediante reacciones intra-celulares de los organismos bentónicos pertenecientes al sistema enzimático oxidante. Estableciendo un nuevo enfoque metodológico para determinar las respuestas de los organismos frente a los organismos estresores promoviendo la aplicación de biomarcadores integrales de efecto como herramienta de evaluación del estado de salud del ecosistema, entregando un instrumento de diagnóstico del grado del impacto ambiental originado por los efluentes de pisciculturas.

Palabras claves: biomarcadores, efluentes pisciculturas, comunidades bentónicas.

Abstract

The man entered the room a wide range of chemicals that are not naturally occurring. For this reason there are many stress factors such as contamination from productive activities that can have cumulative and synergistic effects on the environment. In the rivers of the reasons of environmental degradation of aquatic systems is the result of the expansion of fish farms, since their effluents are considered as a potential contributor of physics as chemical alteration of water resources; nutrient enrichment in receiving water bodies, the subsequent eutrophication, changes in the drift of benthic communities and environmental status disturbed as found in publications worldwide. 's and many environmental pollutants (or its metabolites) have shown exert toxic effects at sub - lethal levels, related to a process called oxidative stress. One way to assess the effects of discharges from fish farming as food waste , drugs (anesthetics , antibiotics , antiparasitic) , is through the use of biomarkers in benthic communities , more specifically determine the oxidative stress caused by effluent discharges by enzymatic assays to measure the main body's antioxidant defenses such as catalase (CAT) , guaiacol peroxidase (POD) and glutathione reductase (Gpx) , estimating the biological consequences of this type of contamination by intracellular reactions of benthic organisms belonging to the oxidizing enzyme system . Setting a new methodological approach to determine the responses of organisms to stressors facing organizations to promote the implementation of

comprehensive biomarkers of effect as a tool for assessing the status of ecosystem health, providing a diagnostic tool grade environmental impact caused by the effluents of fish farms.

Keywords: biomarkers ,fish farm effluents,benthic communities

Introducción

En muchas cuencas los organismos se encuentran expuestos a una mezcla compleja de sustancias, por las actividades que allí se desarrollan, sobre todo aquellas productivas, es así como las industrias son un punto interesante de producción y contaminación, producto de los desechos, tanto orgánicos como inorgánicos que deben ser eliminados y que ocasionan sin los tratamientos adecuados impactos ambientales en cursos de agua, organismos o zonas de cultivos. En este contexto, el impresionante crecimiento de la acuicultura moderna en los últimos 50 años ha conducido a que la producción mundial en el 2000 (45,7 millones de toneladas) representaran ya más de la mitad de todas las capturas por pesquerías, y un tercio de toda la producción mundial de alimento procedente del medio acuático (Vergara et al. 2005). En la última década en Chile, la industria salmonera se ha estado expandiendo a una tasa promedio anual de 22%, convirtiéndose en el segundo mayor productor de salmón después de Noruega (Salmón Chile, 2007). Esto sumado a la creciente demanda del mercado internacional para el salmón chileno, conlleva a aumentar los intereses de las futuras inversiones en la industria del salmón y con ello los efectos en el medio acuático .En la actualidad, en el Sur de Chile (Región de la Araucanía), cada granja acuícola produce alrededor de 30 hasta 40 millones de alevines. Conociéndose aproximadamente 35 granjas acuícolas que están siendo evaluadas en el Sistema Chileno de Evaluación de Impacto Ambiental (Ley: 19300) y un adicional de 150 granjas en espera de la autorización de acuicultura del gobierno y con esto aumenta el impacto ambiental relacionado con las instalaciones de acuicultura, específicamente derivados de los efluentes que se descargan en los ecosistemas fluviales, en donde un acercamiento para conocer el

estado ambiental es mediante una regulación que se rige a través del Reglamento Ambiental de 2001.

Efectos de contaminantes provenientes de pisciculturas

De manera general, las prácticas habituales que se utilizan en la acuicultura impactan negativamente en el medio ambiente a través de los diferentes desechos que son generados en los procesos de producción y funcionamiento de estas instalaciones, produciendo una mezcla compleja de contaminantes variables en el tiempo, como desechos orgánicos e inorgánicos, que se incorporan al ecosistema acuático, en donde, un análisis químico nos entrega las condiciones del cuerpo de agua, sin embargo este varía de un mes a otro, resultando costoso y difícil realizar periódicamente un monitoreo, por lo cual no es suficiente y se hace necesario evaluar los efectos en los organismos.

La introducción de compuestos tóxicos a los ecosistemas acuáticos, produce una variedad de respuestas, como señala (Livingstone 2003) muchas de estas sustancias actúan como desorganizadores endocrinos, porque interfieren en el funcionamiento normal del sistema endocrino (hormonal) del individuo, la modificación del nivel de una enzima, la permeabilidad de una membrana o alteran algún organelo celular.

Estas alteraciones en los organismos están gobernadas por diferentes factores tales como: grado de toxicidad; concentración; tiempo de exposición; características ambientales del sistema receptor; edad y condición de los organismos expuestos; patógenos en el ecosistema; presencia de otros tóxicos; capacidad de biodegradación del compuesto y proceso de transporte, es decir, la distribución del compuesto químico entre la atmósfera, el agua y el suelo, dependiendo de la afinidad de dicho compuesto por cada fase (Hart y Fuller, 1974; EPA, 1982)

Según Tello et al. (2010) los xenobióticos tales como antibióticos, desinfectantes médicos y anestésicos también son ampliamente utilizados y por consiguiente, están presentes en el efluente. Todos estos fármacos poseen diferentes tiempo de degradación y

pueden permanecen en el ambiente por años Bavestrello & Cabello (2001), a nivel mundial es posible conocer aquellos que están siendo utilizados y como afectan el medio ambiente (Tabla 1), en Chile antecedentes señalan que los fármacos manejados se encuentran en una lista que posee el servicio agrícola ganadero (SAG) a manera de control. Los principales efectos generados por estos insumos, se traduce en la toxicidad para otros organismos como también una disminución en la calidad del agua a nivel de eutrofización.

Tabla 1: Algunos ejemplos de fármacos utilizados a nivel mundial en acuicultura y sus efectos.

Table 1: Examples of drugs used worldwide in aquaculture and its effects.

Ejemplos		Riesgos
Antibióticos	Oxitetraciclina	Selección de bacterias resistentes
	sulfadimetoxina-	Residuos en alimentos
	Amoxicilina	Tóxico para animales
	Cypermtrim	
	Carbaryl	Tóxico-irritante
	Trichlorfon	
Parasitocidas	Formalin	
Anestésicos	Metanosulphonate	
	Permanganato de potasio	
	Agua de potasio	Carcinógeno
Oxidantes	Hipoclorito de calcio	Explosivo, toxico, irritante
Algicidas y Herbicidas	Sulfato de cobre	Tóxico para toda la vida de animales
	Cobre quelado	
	Simazina	Tóxico hepático
	Bromuros	Tóxico hematológico

Fuente: Goldberg, R.J., Elliott, M.S., y Naylor, R.L. (2001).

Otro factor que aumenta los impactos, son las cantidades de desechos generadas por la alimentación de los alevines, aportando una carga de nutrientes totales, que son eliminadas al medio acuático y están en relación con los contenidos presentes en las dietas

(Ackefors y Enell, 1994), principalmente nitrógeno y fósforo. Estos compuestos, tienden a variar dependiendo de diversos factores: tipo de alimento utilizado, tamaño de los organismos cultivados, digestibilidad de los distintos componentes de la dieta, sistemas de cultivo utilizados y técnicas de alimentación (Munday et al. 1992). Todo esto influye en la composición de los efluentes eliminados de las pisciculturas, que aumentan significativamente las cargas de nutrientes produciendo eutrofización de las aguas en que son incorporados y con ello ocasionar una deficiencia de oxígeno producto la descomposición de la materia orgánica y con ello afectando la biota acuática (Bunting, 2006)

Así también existen soluciones salinas como parte del manejo de los sistemas de producción, por ejemplo, las soluciones menos concentradas que contienen 0.5% al 1.0% de cloruro de sodio, pueden ser usadas en forma de baños durante varias horas para eliminar algunos parásitos de agua dulce. Las concentraciones que contienen 0.1% a 0.3% pueden ser usadas para aumentar la producción de mucus y ayudar en el proceso de osmorregulación durante el manejo o transporte de los peces de agua dulce (Francis-Froyd 1995).

Todos estos contaminantes son causantes de efectos adversos en los organismos acuáticos como lo señalan estudios realizados por Lumb, (1989), Gillibrand et al. (1996) evidenciando que la respiración por invertebrados bentónicos y las comunidades microbianas que reciben sustancias orgánicas de los efluentes de las pisciculturas puede deprimir la concentración de oxígeno en la columna de agua. Por lo cual todos los desechos orgánicos como inorgánicos que son incorporados en el medio acuático producen estrés oxidativo en los organismos.

Biomarcadores y estrés oxidativo

Producto de la contaminación generada por las descargas de los efluentes en los cuerpos de agua, los acercamientos para evaluar sus efectos han sido mediante la caracterización de los parámetros químicos y el uso bioindicadores de calidad de agua, sin

embargo no se hace suficiente si se busca información tanto sobre la amplitud de la respuesta del organismo como en función del efecto específico del químico, debido a que los valores entregados por los análisis químicos de los distintos compartimentos ambientales, no involucra el conocimiento de los efectos y de la biodisponibilidad de las sustancias contaminantes sobre los organismos (Toro 2010). Por tal motivo la utilización de los biomarcadores definidos como parámetros morfológicos, fisiológicos o bioquímicos que se pueden medir en los organismos y que varían cuando un determinado organismo se expone a un tóxico particular (Ríos de Molina 2003) o como la medición de una sustancia exógena o su metabolito o el producto de una interacción entre un xenobiotico y algunas moléculas o células blanco dentro de un organismo (WHO 1993), es la herramienta que permite la conexión entre los efectos de una sustancia contaminante y los diversos niveles de organización estructural. Asimismo se considera biomarcador a un cambio en la alteración en el contenido de proteína y actividad enzimática que se encuentra vinculada a la cantidad de contaminante (Botello et al. 2006). La ventaja es que ofrecen información completa y biológicamente relevante sobre el potencial impacto de los contaminantes tóxicos en la salud de los organismos, ponen en evidencia síntomas tempranos del daño causado por el contaminante y, por tanto, pueden ser utilizados como señales de alarma ante la presencia de contaminantes químicos (Toro 2010). Esto porque los efectos de las sustancias tóxicas sobre un ecosistema se inician con una reacción bioquímica en el individuo. Esta respuesta inicial ocurre en niveles de organización biológica más bajos y es altamente reversible y específica. Subsecuentemente, con el incremento del impacto, se inicia una secuencia de alteraciones dentro de los niveles más complejos, llevando a la perturbación de las funciones vitales (Bozo et al. 2007). O desencadenar el proceso de estrés oxidativo en organismos, responsables de efectos en células y tejidos asociados a mutagénesis y carcinogénesis y/o la muerte. En resumen los biomarcadores son sensibles a los tóxicos y responden rápidamente, ayudando a identificar los mecanismos básicos de las relaciones causales entre un tóxico y su efecto, permitiendo establecer el peligro potencial al que están sometidas la o las comunidades objeto de estudio (López 2000).

Concepto de Estrés oxidativo

Según Lushchak (2011), el estrés oxidativo se genera cuando existe una sobrecarga en la formación de radicales libres o agentes prooxidantes, la cual no es debidamente compensada por los mecanismos de defensa antioxidante que posee el organismo (Figura 1)

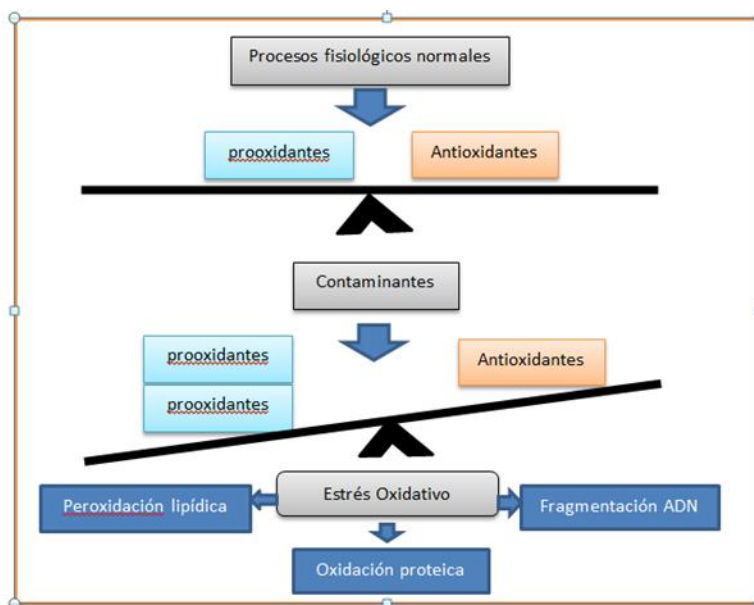


Figura 1: Proceso de generación de estrés oxidativo por contaminación (Tomado de Fassiano et al. 2011)

Figure 1: Process generation of oxidative stress by pollution (Fassiano et al. 2011)

El proceso de estrés oxidativo se ha considerado un mecanismo de toxicidad significativo sobre los organismos a los que afecta y ha permitido su uso como herramienta de diagnóstico, con capacidad predictiva de evidenciar el impacto de los contaminantes sobre los organismos.

Una manera de cuantificar este impacto es mediante el estudio de la defensas antioxidantes en donde juegan un papel importante en proteger los sistemas celulares (Valavanidis et al. 2006). La inducción antioxidante, es un componente importante de las

respuestas adaptativas en los organismos expuestos a diferentes clases de contaminantes o factores estresores (Stohs y Baghi 1995). Tres de las principales fuentes antioxidantes son las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (Gpx), siendo estas las que reaccionan para proteger los sistemas celulares del estrés oxidativo inducido por xenobióticos. Otras enzimas auxiliares regeneran las formas reducidas que se consumen durante los procesos oxidativos -NADPH, GSH-, como hacen la glucosa-6P-deshidrogenasa y la glutatión reductasa. (López 2000).

Existen en el medio ambiente condiciones que poseen características de ser inductores de estrés oxidativo en organismos acuáticos como la temperatura, nivel de oxígeno, salinidad y metales pesados (Volodymir 2011). Al respecto las funciones de los mecanismos de defensas antioxidantes que poseen los organismos son variadas, es así como las actividades de glutatión peroxidasa (Gpx) son uno a dos órdenes de magnitud inferior en invertebrados que en los vertebrados, mientras que las actividades de SOD y CAT son similares o superiores en los invertebrados (Livingstone et al. 1992; Regoli et al. 2002).

Cuando los organismos se exponen a estrés oxidativo, se generan una variedad de respuestas fisiológicas, así lo señala Livingstone (2001) que al ocurrir un cambio de salinidad en un cuerpo de agua los organismos expuestos, manifestaron una alteración del equilibrio electrolítico, hay una estimulación del metabolismo energético y la reacción de las hormonas relacionadas con el estrés. Martínez et al. 2002 a su vez señala que este factor inductor de estrés, desencadena en el organismo, en primera instancia, la perturbación de los fluidos corporales, lo que conlleva a la activación de los mecanismos de osmoregulación, y al aumento de las defensas antioxidantes en la sangre, como también se produce alteración de los metabolitos de la energía.

Un estudio realizado por Szocs et al. 2013, encontró que las diferencias observadas en las variaciones de salinidad entre los grupos taxonómicos de macroinvertebrados, reconocen que Crustáceos y Moluscos fueron los grupos más tolerantes, Ephemeroptera y Plecoptera los más sensibles.

Sumado a lo anterior, antecedentes muestran que las tasas de derivas de macroinvertebrados bentónicos están correlacionadas positivamente con los cambios de

conductividad en las aguas, cambiando por tanto la distribución de estos organismos (Canales 2010).

Estas respuestas generadas por los organismos puede no ser fácilmente evidente hasta que la comunidad, algunos o todos los componentes a través de un ciclo de impacto (es decir, un cierto grado de sucesión iniciado por una perturbación) se inician. Las cuales necesitan ser evaluadas para conocer el nivel de estrés ambiental.

Macroinvertebrados bentónicos como organismos de medición de estrés oxidativo

Los organismos acuáticos son más sensibles a la exposición y la toxicidad en comparación con organismos terrestres, incluyendo mamíferos y en este contexto pueden proporcionar datos experimentales para la evaluación de los efectos de estrés oxidativo, mutagénesis, y otros efectos adversos de los contaminantes (Lackner 1998). La razón se explica porque la captación de los contaminantes en los organismos acuáticos puede ocurrir por sedimentos, partículas en suspensión y fuentes de alimentación con tóxicos (Valavanidis et al. 2006). Siendo importante mencionar que la exposición a estos contaminantes dependerá de la dieta y en particular estilos de vida ecológicos de los organismos acuáticos.

Dentro de los organismos acuáticos, se destacan los macroinvertebrados bentónicos por una serie de características que lo convierten en los indicadores biológicos más utilizados en la evaluación de los ecosistemas fluviales del mundo Debido a que proporcionan excelentes señales sobre la calidad del agua, y, al usarlos en el monitoreo, puede entender claramente el estado en que ésta se encuentra: algunos de ellos requieren agua de buena calidad para sobrevivir por los Ordenes Ephemeropteros, Plecoptera, otros en cambio, resisten, crecen y abundan cuando hay contaminación representados por Chironomidae y Oligochaeta (Figuroa et al. 2003). Además de presentar otras ventajas como (a) presencia en prácticamente todos los sistemas acuáticos continentales, posibilitando estudios comparativos; (b) su naturaleza sedentaria, la que permite un análisis espacial de los efectos de las perturbaciones en el ambiente; (c) Presentan un largo periodo

de permanencia en el agua, lo cual permite estudiar cambios temporales,(d) los muestreos cuantitativos y análisis de las muestras, que pueden ser realizados sin mayor dificultad utilizando equipos simples y de bajo costo, respecto a otros componentes de la biota acuática (Roldan 2001), siendo estas razones suficientes para la selección de estos organismos como herramienta de aplicación de biomarcadores de estrés oxidativo. Sumado a lo anterior la literatura existente en esta área de experimentación se profundiza en estudios con otras especies como por ejemplo peces trabajos de Rodríguez *et al* (1993) López (2000), Dorval y Hontela (2003), Ochoa y González (2008), Bellassoued *et al* (2012), en organismos cefalópodos estudios de Fassiano *et al.* (2013), experimentos en camarones como lo realizado por Ahuajote (2004), estudios en organismos marinos Abele-Oeschger (1996) entre otros.

Contando con un número reducido de referencias bibliográficas respecto a la evaluación de estrés oxidativo en macroinvertebrados bentónicos, siendo los más característicos lo aportado por Choi *et al.* (1999) donde propone un potencial biomarcador mediante la evaluación de la superóxido dismutasa (SOD) en larvas de *Chironomus riparius*, que fueron sometidas a condiciones de hipoxia, reflejando la adaptación del organismo por parte del organismo al aumentar las defensas enzimáticas y las investigaciones de Barata *et al.* (2005), al proporcionar información sobre la relación de las comunidades bentónicas (Trichoptera) y las concentraciones de metales mediante la evaluación de la actividad enzimática.

En consecuencia, a pesar de existir investigaciones en materia de impactos generados por las industrias al ecosistema y de los efectos en calidad de agua, no es suficiente contar con el monitoreo químico sino que es necesario contar con metodologías que permitan entregar antecedentes de manera temprana sobre los focos y niveles de contaminación proponiendo para ello la aplicación de biomarcadores en organismos acuáticos como herramienta de diagnóstico, evaluación y seguimiento de contaminantes .

Referencias

- Abele-Oeschger, A. 1996 A comparative study of superoxide dismutase activity in marine benthic invertebrates with respect to environmental sulphide exposure, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 197: 39-49.
- Ackefors A. y I. Enell, 1994. Sustainable Aquaculture food for the future In: Proceedings of the second International Symposium on sustainable aquaculture.
- Adams, S.M. 2002. Biological Indicator of Aquatic Ecosystems estres .Introduction and Overview. En S. M. Adams, (Ed.), *Biological indicators of aquatic ecosystems estres*. Maryland, USA: American Fisheries Society. 12 pp
- Ahuejote A. 2004 Estrés oxidativo en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en respuesta a hipoxia y reoxigenación .Tesis de Maestría. La Paz, Baja California Sur, México, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 74 pp
- Barata I., B.M. Lekumberri, C. Vila-Escale, N. Prat, y C. Porte. 2005. Trace metal concentration, antioxidant enzyme activities and susceptibility to oxidative estres in the tricoptera larvae. *Hydropsyche exocellata* from the Llobregat river basin (NE Spain) *Aquatic Toxicology* 74: 3–19.
- Baudhuin P.H., Y. Beaufay, Y. Rahman-Li, O.H. Sellinger, R. Watliaux, P. Jacques, y C. Duve 1964 Tissue fractionation studies XVII. Intracellular distribution of monoamine oxidase, aspartate aminotransferase, d-amino acid oxidase and catalase in rat liver tissue, *Biochemical Journal* 92: 179-187.
- Bavestrello, C. 2011 Chile enforces regulations on the sale and dispensing of antibiotics. *APUA Newslett* 19: 5.
- Bellassoued, K. A. Hamza, J. van Pelt y A. Elfeki. 2012 Antioxidant response of a common herbivorous fish species (*Sarpa salpa*): Seasonal variation, *Ciencias Marinas* 38(1A): 57–71pp

Botello, A., J. Rendón G. Gold-Boucht y C. Agraz (Eds). 2006 Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. Segunda edición Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional de México e Instituto Nacional de Ecología. 696 pp

Bozo, L., M. Fernández, M. López, R. Reyes y P. Suárez 2007 Biomarcadores de contaminación química en comunidades microbianas. *Interciencia* 32: 1-15.

Bunting, S. 2006 Low impact aquaculture Centre for Environment and Society Occasional University of Essex, Colchester UK 3:1-36 pp

Canales, L. 2010 Determinación de las tasas de deriva de Macroinvertebrados bentónicos y calidad del agua, región de la Araucanía, Chile; Universidad católica de Temuco.

Choi J, H. Roche and T. Caque. 1999 Characterization of superoxide dismutase activity in *Chironomus riparius* Mg. (Diptera, Chironomidae) larvae a potential biomarker *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 124: 73–81.

Dorval, J. y A. Hontela. 2003 Role of glutathione redox cycle and catalase in defense against oxidative stress induced by endosulfan in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): *Toxicology and Applied Pharmacology* 192: 191-200.

Fassiano, Anabella Victoria Ortiz, Nicolás, Ríos de Molina, María del Carmen 2012 Estrés oxidativo en cefalópodos: I. Determinación de TBARS, *Acta Toxicol. Argent.* 20 (2): 57-61 pp

Francis-Floyd, R. 1995 Use of salt in aquaculture- UF/IFAS Fact Sheet VM 86. University of Florida.

Figuroa R., C. Valdovinos, E. Araya y O. Parra 2003 Macroinvertebrados bentónicos como indicadores de calidad de agua de ríos del sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 76: 275-285.

Gillibrand, P.A., W.R. Turrell, D.C. Moore, y R.D. Adams. 1996 Bottom water stagnation and oxygen depletion in a Scottish sea loch. *Estuaries, Coastal and Shelf Science* 43: 217-235.

Goldberg, R.J., M.S. Elliott, y R.L. Naylor. 2001 Marine Aquaculture in the United States. Environmental Impacts and Policy Options. Pew Oceans Commission. Arlington, Virginia. 1-33.

Hart J.R and S.L. Fuller 1974 Pollution ecology of freshwater invertebrates .Academic Press. New York. 389pp

Lackner, R. 1998 “Oxidative estres” in fish by environmental pollutants. In: Braunbeck, T., Hinton, D.E., Streit, B. (Eds.), Fish Ecotoxicology. Birkhauser Verlag, Basel, 203–224.

Livingstone, D.R., F. Lips, P. Garcia Martinez, and R.K Pipe. 1992. Antioxidant enzymes in digestive gland of the common mussel *Mytilus edulis* L. Marine Biology 112 :265–276.

Livingstone, D.R. 2001 Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. Marine Pollution Bulletin 42: 656-666.

Livingstone D.R. 2003 Oxidative estres in aquatic organism in relation to pollution and aquaculture. Revue Médecina Véterinaria 154: 427-430.

López, J. 2000 Biomarcadores moleculares de estrés oxidativo y contaminación ambiental Revista de Toxicología 17: 12-18.

Lushchak, V.I. 2011 Environmentally induced oxidative estres in aquatic animals .Aquatic Toxicology 10: 13–30.

Martinez, M.C., Hidalgo, A. Domezain, A. E. Morales, M. García-Gallego y A. Sanz 2002. Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity; The Journal of Experimental Biology 205: 3699-3706.

Munday, B., A. Eleftheriou, M. Kentouri y P. Divanach 1992 The interactions of Aquaculture and the Environment. A bibliographical review. Commission of the European Communities. Directorate General for Fisheries. Bruselas: 325 pp.

Ochoa, D.M. y J.F. González 2008 Estrés oxidativo en peces inducido por contaminantes ambientales. Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia 55: 115-126.

Regoli, F., S. Gorbi, G. Frenzilli, M. Nigro, I. Corsi, S. Focardi, and G.W. Winston, 2002 Oxidative stress in ecotoxicology: from the analysis of individual antioxidants to a more integrated approach. *Marine Environmental Research* 54: 419–423.

Ríos de Molina, M.C. 2003 El estrés oxidativo y el destino celular *Revista Química Viva* 2: 1-8

Rodríguez-Ariza, A., J. Peinado, C. Pueyo and J. Lopez-Barea 1993 Biochemical indicators of oxidative stress in fish from polluted littoral areas. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50: 2568-2573

Roldán, G. 2001. Los macroinvertebrados y su uso como indicadores de la calidad del agua. *Memorias del taller “Medidas de la biodiversidad en Biología y Paleobiología”*, 20-32.

Salmón Chile. 2007. Informe económico salmonicultura, 111 pp

Stohs, S.J. y D. Baghi 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radicals Biology and Medicine* 2: 321-336 .

Szocs, E., E. Coring, J. Bathe and J. Schafer. 2013, Effects of anthropogenic salinization on biological traits and community composition of stream Macroinvertebrates, *Science of the Total Environment*, 15: 486-469.

Tello A., R. Corner and T. Telfer 2010. How do land-based salmonid fish farms affect stream ecology? *Environmental Pollution*, 158: 1147- 1158.

Toro-Restrepo, B. 2010. Uso de los biomarcadores en la evaluación de la contaminación, *Luna Azul* 32: 121-127.

Valavanidis A, Thomais Vlahogiannia, Manos Dassenakisb, Michael Scoullas 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 64: 178-189.

Vergara, J. M., R. Haroun, N. González, L. Molina, O. Briz, A. Boyra, L. Gutiérrez y A. Ballesta. 2005. Evaluación de impacto ambiental de acuicultura en jaulas en Canarias. J. M. Vergara, R. Haroun y N. González *Oceanográfica. Telde (Gran Canaria), España*. 110 pp