

## EFFECTOS DEL CROMO HEXAVALENTE Y UN CARBAMATO SOBRE DOS ESPECIES DE CLADOCEROS

CARMEN REYES B<sup>1</sup>. & CONSUELO DÍAZ B<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. AA 14490 Santa Fe de Bogotá. E-mail : careyes@ciencias.ciencias.unal.edu.co

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Civil. E-mail: mcdiaz@ingenieria.ingsala.unal.edu.co

### RESUMEN

Se evaluó el efecto de un carbamato y de un metal pesado sobre la sobrevivencia, el periodo de maduración sexual y la fertilidad en los microcrustáceos de agua dulce *Daphnia magna* y *Daphnia obtusa*. El valor de toxicidad aguda ( $LC_{50-48h}$ ) y el de toxicidad crónica (Valor Crónico, VC) fueron determinados. Para *D. magna* la  $LC_{50}$  de  $Cr^{+6}$  fue 0.35 mg/l y el VC fue 0.20 mg/l. En *D. obtusa* la  $LC_{50}$  obtenida con  $Cr^{+6}$  fue 0.04 mg/l y el de VC 0.009 mg/l. Para *D. magna* la  $LC_{50}$  con Methomyl fue 0.10 mg/l y el VC  $2.2 \times 10^{-3}$  mg/l. Para *D. obtusa* la  $LC_{50}$  con Methomyl fue 0.005 mg/l sin embargo la respuesta de los animales a concentraciones subletales fue irregular y por tanto el VC, por su baja confianza estadística, no se presenta.

**Palabras claves:** *Daphnia magna*, *Daphnia obtusa*, Methomyl, cromo hexavalente,  $LC_{50}$

## ABSTRACT

The effect of a carbamate and a heavy metal was evaluated on survival, sexual maturation and fertility of the aquatic cladocerans *Daphnia magna* and *Daphnia obtusa*. Acute toxicity- $LC_{50}$  and chronic toxicity-CV values were determined. For *D. magna*  $LC_{50}$   $Cr^{+6}$  was 0.35 mg/l and CV 0.20 mg/l. For *D. obtusa*  $LC_{50}$   $Cr^{+6}$  was 0.04 mg/l and VC 0.009 mg/l. For *D. magna*  $LC_{50}$  Methomyl was 0.10 mg/l and CV  $2.2 \times 10^{-3}$  mg/l. Exposure of *D. obtusa* to Methomyl yielded a  $LC_{50}$  of 0.005 mg/l, and response of animal at sublethal concentrations were irregular, therefore CV statistical confidence was poor and not shown.

**Key words:** *Daphnia magna*, *Daphnia obtusa*, Methomyl, Chromo,  $LC_{50}$

## INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente los estudios de calidad del agua tienen en cuenta variables físicas, químicas y bacteriológicas, pero en los últimos años se ha considerado conveniente apreciar el efecto y el riesgo de la descarga de sustancias contaminantes sobre los organismos acuáticos (Moriati, 1990). En este marco de referencia, la implementación de bioensayos o pruebas de toxicidad se constituye en un elemento importante para proporcionar información ecotoxicológica acerca de los efectos en los organismos y sus hábitat naturales, de las sustancias químicas y de las radiaciones, producto directo o indirecto de las actividades humanas (Depledge, 1990).

Los cladóceros, y en particular el género *Daphnia* se han empleado tradicionalmente en la evaluación de la contaminación acuática no sólo por la importancia que tienen estos animales en la dinámica trófica de lagos, embalses, ciénagas, y otros cuerpos de agua, sino también por que se consideran organismos sensibles a los cambios en el hábitat que ocupan (Geiger *et al.*, 1980; Cairns, 1985). Mount y Nourberg, citados en Wilson (1992) mencionan a los cladóceros, como organismos útiles en la determinación del impacto potencial de vertimientos sobre aguas receptoras, por ser uno de los grupos más importantes en convertir fitoplancton y bacterias en proteína animal disponible para animales de mayor tamaño, como macroinvertebrados y peces.

Para determinar la actividad biológica adversa a corto y largo plazo de los componentes principales de algunos vertimientos, sobre dos especies de cladóceros; *Daphnia magna* y *Daphnia obtusa*, se seleccionó un metal pesado, cromo hexavalente, y el Methomyl, N-[[[(methyl amino)carbonyl]oxy]-ethanimido tioato, un insecticida tipo carbamato.

El cromo está presente en los desechos de varios tipos de industrias (Céspedes, 1991), y son pocos los estudios que se han hecho en el país acerca de su efecto sobre la fauna

acuática (Hoyos, 1995; CAR-UN, 1996), o sobre la determinación de valores permisibles en suelo, agua y atmósfera. En el país el uso de pesticidas organoclorados y organofosforados ha sido regulado por el Ministerio de Salud, con base en su potencial de acumulación en los organismos y su tiempo de vida media que va de meses a años (Hill, 1990), y para reemplazarlos se ha promovido el empleo de carbamatos, un tipo de pesticidas altamente tóxico, pero con un tiempo de hidrólisis en el suelo de 25 semanas (USEPA, 1989) y poca tendencia a bioconcentrarse. De acuerdo con reportes del ICA (1994) el consumo de Methomyl en cultivos agroindustriales está por encima de 100 toneladas al año, y se encuentra dentro de las sustancias de interés sanitario del Ministerio de Salud (Decreto 1594/84).

El presente trabajo se articula con una serie de investigaciones que se han venido realizando en la Universidad Nacional de Colombia (Plazas, 1994; Almanza, 1995; Hoyos, 1995; Murillo, 1997), orientadas a conocer el efecto de sustancias tóxicas sobre algunos organismos acuáticos. En esta investigación se quiso establecer cómo afecta cada tóxico el ciclo de vida de los organismos de prueba ya mencionados, precisar el valor heurístico de la Concentración Letal - 50 ( $LC_{50-48h}$ ), identificar cual de las variables del ciclo de vida refleja mejor el efecto deletéreo de los productos y valorar la idoneidad de las dos especies de *Daphnia* en la monitoria de metales pesados y carbamatos. De manera complementaria se considera que este trabajo contribuye a esclarecer el valor de las especies nativas para el monitoreo de ambientes contaminados.

## METODOLOGÍA

Para estudiar el efecto de  $Cr^{+6}$  y Methomyl se realizaron pruebas de toxicidad aguda y crónica. La fase experimental se realizó con 2 especies de cladóceros del Género *Daphnia*. *D. magna*, especie frecuente en regiones templadas y ampliamente recomendada para bioensayos por las agencias de protección del medio ambiente, y *D. obtusa*, especie de amplia distribución y frecuente en lagunas de la región Andina. Los neonatos de *D. magna* y *D. obtusa* usados durante los bioensayos provenían de cultivos mantenidos en el laboratorio en condiciones controladas (tabla 1).

Tabla 1. Condiciones de crecimiento de los cultivos base de las dos especies de *Daphnia*

	<i>Daphnia magna</i>	<i>Daphnia obtusa</i>
Fotoperiodo	16 h luz - 8 h oscuridad	16 h luz - 8 h oscuridad
Temperatura	20°C +/- 2°C	20°C +/- 2°C
O.D	6 mg/l	6 mg/l
pH	7.6	6.8
Dureza	180 mg $CaCO_3$ /l	40 mg $CaCO_3$ /l
Alimentación	$4.5 \times 10^6$ u. alga/individuo/día	$3 \times 10^6$ u. algal/individuo/día
Densidad	10 daphnias/ l.	20 daphnias/ l.

## Pruebas de Toxicidad aguda

Para determinar el rango de sensibilidad de cada especie a  $\text{Cr}^{+6}$  y Methomyl se emplearon las pruebas de toxicidad aguda, en las cuales se provocaba la muerte de los organismos, en un período de 48 horas (Reish & Oshida, 1984).

Para la  $\text{LC}_{50}$  de  $\text{Cr}^{+6}$  en *D. magna* se utilizaron los valores de estudios recientes en las mismas condiciones de experimentación. A partir de los datos de Hoyos (1995) y de CAR-UN, (1996), en los cuales se reportan  $\text{LC}_{50-48 \text{ h}}$  para *D. magna* entre 0.22 - 0.35 mg/l de  $\text{Cr}^{+6}$ , se obtuvo el valor de 0.35 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$ , como la concentración a la cual muere la mitad de los organismos expuestos ( $\text{LC}_{50}$  de  $\text{Cr}^{+6}$ ) en la citada especie. Para obtener el rango de concentraciones en las que se debían verificar las pruebas de toxicidad aguda para *D. obtusa* se realizaron 2 pruebas de tanteo, partiendo de concentraciones iguales a las usadas con *D. magna*. Con base en los resultados de la segunda prueba se definieron las concentraciones a las cuales se realizarían las pruebas de  $\text{LC}_{50-48 \text{ h}}$  empleando finalmente un rango entre 0.056 - 0 mg/l de  $\text{Cr}^{+6}$ .

Para las soluciones de tanteo con Methomyl se preparó una solución madre de 1 g/l en agua destilada; en agua de dureza 180 mg/l  $\text{CaCO}_3$  para *D. magna* y de 40 para *D. obtusa*, y se hicieron soluciones en un intervalo de concentración de 100 - 1 mg/l, siguiendo un factor de dilución de 0.5. Debido a que todos los animales expuestos a Methomyl murieron inmediatamente, en el segundo tanteo y en las pruebas definitivas la concentración estuvo entre 0.1 y 0.0001 mg/l.

Siguiendo los protocolos de APHA Standard Methods (1994), en recipientes de 50 ml, se colocaron 5 neonatos de la respectiva especie, en cada una de las concentraciones y en el control. En las pruebas de tanteo no se usaron réplicas, pero en la determinación de la  $\text{LC}_{50-48 \text{ h}}$  para cada tratamiento se trabajó con 3 réplicas, y se realizaron 3 bioensayos. Con los datos obtenidos se determinó el valor de  $\text{LC}_{50-48 \text{ h}}$  usando el método Probit o Logit, disponibles en el programa para computador  $\text{LC}_{50}$ , facilitado por la EPA (1994).

## Pruebas de Toxicidad crónica

Con la información obtenida en las pruebas de toxicidad aguda (tabla 3), se definió el rango de concentraciones a evaluar en las pruebas de ciclo de vida, empleando una serie de 4 concentraciones para  $\text{Cr}^{+6}$  y 5 para Methomyl, con los respectivos controles. En el caso de cromo hexavalente, para *D. magna* se partió de una solución madre de 100 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$  en agua destilada, y se prepararon diluciones desde 0.42 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$  en agua de dureza 180 mg/l, utilizando un factor de dilución de 0.5. Para *D. obtusa* la solución madre fue de 10 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$  y las diluciones en agua de dureza 40 mg/l se iniciaron a partir de 0.042 mg/l. Para el carbamato la solución madre fue de 10 mg/l de Methomyl, preparando diluciones desde 0.01 mg/l en agua dura (180 mg/l) para *D. magna* y en agua blanda (40 mg/l) para *D. obtusa*, siguiendo un factor de dilución de 0.5.

Tabla 2. Rango de concentraciones evaluadas en las pruebas de toxicidad crónica

Especie	Cr <sup>+++</sup> mg/l	Methomyl mg/l	
<i>D. magna</i>	0.42 - 0.07	0.01 - 0.0001	Control
<i>D. obtusa</i>	0.042 - 0.007	0.001 - 0.00001	Control

Cada concentración o tratamiento tuvo 10 réplicas o unidades experimentales, constituidas por un neonato de 24 h +/- 8 h de nacido, depositado en recipientes de 25 ml con la solución problema. La asignación de los neonatos a las diferentes soluciones se hizo completamente al azar para asegurar la independencia estadística necesaria para el análisis de los datos finales. Cada recipiente se examinaba diariamente, se alimentaba según las cantidades presentadas en la Tabla 1, y se registraban las muertes y los nacimientos (EPA, 1994). Las crías que se presentaban diariamente, se contaban y se extraían de la unidad experimental.

Los bioensayos de toxicidad crónica se realizaron en condiciones estáticas, con renovación de la solución cada 5 días, durante períodos de 60 y 40 días, lapso en el cual, de acuerdo a los datos de ciclo de vida, *D. magna* y *D. obtusa*, respectivamente, han pasado ya la mitad de su vida reproductiva, y por tanto los resultados reflejan el efecto de las sustancias evaluadas sobre los parámetros de fertilidad de la especie (EPA, 1994). Los efectos tóxicos de las sustancias se monitorearon mediante las siguientes variables: sobrevivencia, duración del período anterior al inicio de la madurez reproductiva (P.M), y fertilidad (número de partos, número total de crías).

Para cada tipo de sustancia y de organismo se hicieron dos bioensayos. Los montajes de cada bioensayo se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura, pH, oxígeno y fotoperíodo semejantes a las presentadas en la Tabla 1. Al final de cada bioensayo se elaboraba una matriz de datos totales. Para cada concentración se hicieron tablas resumen con el porcentaje de sobrevivencia y con los promedios de cada variable estudiada. A partir de estas tablas se hicieron las gráficas de cada variable, comparando los resultados de los bioensayos con el objeto de identificar las tendencias y observar la variabilidad total.

A continuación se hizo el análisis estadístico, utilizando el programa de la EPA ToxStat (1994), a partir del cual se estableció para cada variable la Mínima Concentración Efectiva - **LOEC** (**L**owest **O**bserved **E**ffect **C**oncentration), y la Máxima Concentración No Efectiva - **NOEC** (**N**on **O**bserved **E**ffect **C**oncentration). En el análisis estadístico, se siguió el protocolo presentado en EPA (1994) - ToxStat (Gulley *et al.*, 1994), empleando la prueba de Dunnett o la prueba de Steel (Many one rank) según las características de normalidad y homogeneidad de varianza de los datos.

Con base en los resultados de la prueba se identificaron los grupos que difieren y los que no difieren significativamente del control, y se establecieron cuales son las LOEC y NOEC, para cada bioensayo y cada característica estudiada. El promedio geométrico de LOEC y NOEC, indica la concentración segura o valor crónico VC, por debajo de la cual se espera que los animales puedan tolerar la sustancia problema sin presentar efectos sobre la población.

## RESULTADOS

### Toxicidad aguda

Los resultados de los ensayos de toxicidad aguda para las sustancias evaluadas se presentan en la Tabla 3, donde puede observarse que *D. obtusa* es más sensible a cromo hexavalente así como a Methomyl.

Tabla 3. Valores de  $LC_{50-48h}$  de  $Cr^{+6}$  y Methomyl (carbamato) para dos especies de *daphnia*.

	<i>D. magna</i>	<i>D. obtusa</i>
	$LC_{50-48h}$	$LC_{50-48h}$
$Cr^{+6}$ (mg/l)	0.35*	0.04
Methomyl (mg/l)	0.01	0.005

$LC_{50-48h}$ : Concentración letal, a la cual muere la mitad de los organismos de prueba, en 48 horas.\* Tomado de los estudios de Hoyos y CAR-UN, 1996.

Al comparar los valores presentados en la tabla 3 se observa que para  $Cr^{+6}$  la diferencia entre las dos especies es de un orden de magnitud, resultando 10 veces menor la  $LC_{50}$  en *D. obtusa*. Igual sucedió con Methomyl, pues aunque para las dos especies estudiadas resultó perjudicial, *D. obtusa* fue más susceptible a la presencia de esta sustancia, observándose efectos letales en exposiciones cortas a concentraciones iguales a la mitad de las requeridas para detectar el mismo efecto en *D. magna*. La magnitud de la diferencia en sensibilidad al cromo lleva a suponer que *D. obtusa* es una especie apropiada para el monitoreo de vertimientos con este metal pesado.

Al confrontar la concentración máxima permisible de  $Cr^{+6}$  en agua para consumo humano (0.05 mg/l), con la  $LC_{50}$  obtenida para ambas especies de *Daphnia* se encuentra que dicho valor es inferior a  $LC_{50}$  para *D. magna* pero cercana a la concentración que afecta letalmente a *D. obtusa*. Algo similar sucede al contrastar la concentración máxima permisible en agua para consumo humano, 0.2 mg/l de Methomyl (200 ppb) Exttoxnet (1993) con la  $LC_{50-48h}$  de los dos especies de *Daphnia*; en ambos casos la

concentración segura para el hombre está muy por encima de los valores tolerados por los cladóceros.

De los hechos anteriormente expuestos se deduce, al contrario de lo que podría suponerse, que lo que es seguro para el hombre no lo es para la biota y por lo tanto se percibe la importancia de investigaciones ecotoxicológicas, en las cuales se genere información que permita a las agencias ambientales estimar el riesgo de diferentes tipos de vertimientos.

La  $LC_{50}$  reportada por DuPontá para Methomyl - *D. magna* es de 28.7 ppb en tanto que el dato obtenido durante este estudio, para la misma especie es de 10 ppb (0.01mg/l) valor que se encuentra dentro de los rangos de fluctuación observados con otras sustancias. Considerando que para carbaryl, otro carbamato, la  $LC_{50}$  es de 10 ppb (Dodson & Hanazato, 1996), y teniendo en cuenta la  $LC_{50}$  de *D. obtusa*, se podría sugerir, como nueva hipótesis a probar, que la toxicidad de los carbamatos en general, para el género *Daphnia*, se mueve en un mismo orden de magnitud, entre 5 - 25 ppb. Estos resultados coinciden con lo reportado por Kaplan y Sherman (1977) respecto a la fuerte toxicidad de esta sustancia en invertebrados acuáticos, y alerta respecto al manejo de vertimientos o lixiviados que recojan carbamatos.

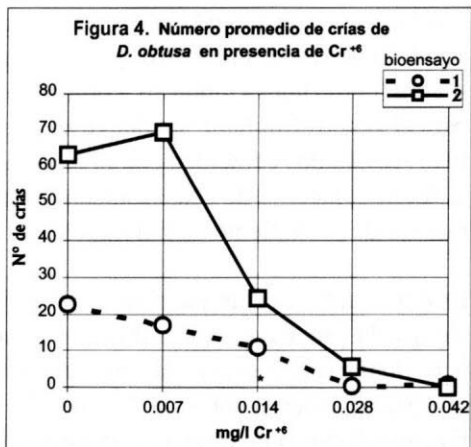
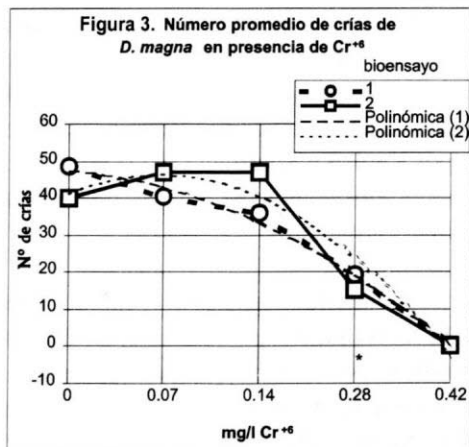
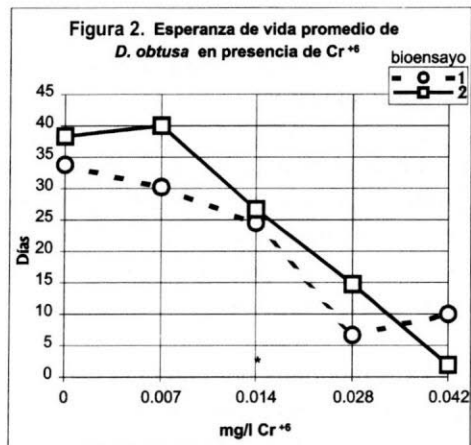
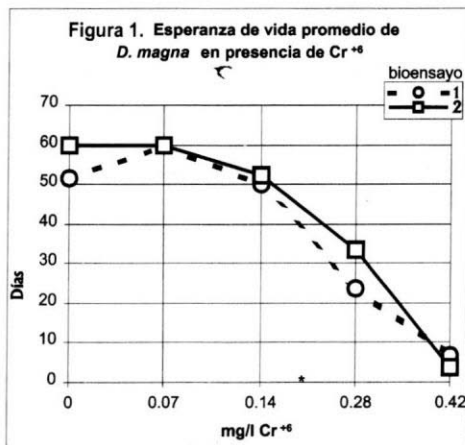
Es importante resaltar que el mecanismo de acción de Methomyl es muy rápido, pues aunque la prueba completa duró 48 horas, la mortalidad registrada al final de este periodo fue la acaecida en las primeras 6 horas de exposición; ninguna de las daphnias que permanecieron con vida después de este lapso murió durante la experimentación. Este resultado coincide con la toxicidad rápida reportada para sustancias muy solubles en agua.

### Toxicidad crónica

A pesar de sus diferentes modos de acción, el metal pesado y el carbamato evaluados, tuvieron efectos negativos sobre la esperanza de vida y la fertilidad de las especies *D. magna* y *D. obtusa*, si bien en esta última las respuestas obtenidas con Methomyl no fueron concluyentes respecto a la fertilidad.

En el caso de  $Cr^{+6}$  la Figura 1 indica que en el control y la más baja concentración evaluada la mayor parte de los especímenes de *D. magna* viven durante toda la prueba, y sólo a partir de 0.14 mg/l  $Cr^{+6}$  hay una ligera disminución en la sobrevivencia, que se acentúa en las mayores concentraciones. Es notable la diferencia en la sobrevivencia de las dos concentraciones más altas, que pasa de 20-30 días de vida a 0.28 mg/l  $Cr^{+6}$  a sólo 5 días en 0.42 mg/l  $Cr^{+6}$ . Esta última concentración corresponde a un valor cercano a la  $LC_{50}$ , lo cual indica que si bien es un valor probabilístico, en exposiciones a largo plazo de  $Cr^{+6}$ , los animales pueden sobrevivir más de 48 h, pero mueren en una etapa temprana de su desarrollo.





Los animales expuestos a 0.28 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$  acceden a la etapa reproductiva, pero su expectativa de vida se reduce aproximadamente a la mitad y todos mueren antes de finalizar la prueba. Estos resultados se complementan con los obtenidos en la prueba de Dunnett, según la cual en esta concentración se presentan diferencias significativas con el control, y por tanto se propone 0.28 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$  como LOEC.

En *D. obtusa* los resultados presentados en la Figura 2 muestran que desde 0.014 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$  hay un cambio fuerte en la sobrevivencia con respecto al control, presentándose muerte temprana en las concentraciones mayores. La confrontación de estas gráficas con los resultados del análisis estadístico indican que 0.014 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$  puede considerarse el valor LOEC de sobrevivencia para la especie nativa.

En cuanto a la fertilidad, en *D. magna* el número de crías en bajas concentraciones de  $\text{Cr}^{+6}$  (Figura 3) es muy similar al control, pero en 0.28 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$  hay una pérdida cercana al 60%, que puede relacionarse con la reducción en el tiempo de vida.



En *D. obtusa* (Figura 4) se observó reducción en el número de crías a medida que aumentaba la concentración de  $\text{Cr}^{+6}$ , incrementándose a partir de 0.014 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$ . Los resultados de la prueba de Dunnett indican que para cada especie en las concentraciones arriba mencionadas hay diferencias significativas con el control y por tanto para fertilidad el de *D. magna* fue 0.28 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$  y para *D. obtusa* 0.014 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$ .

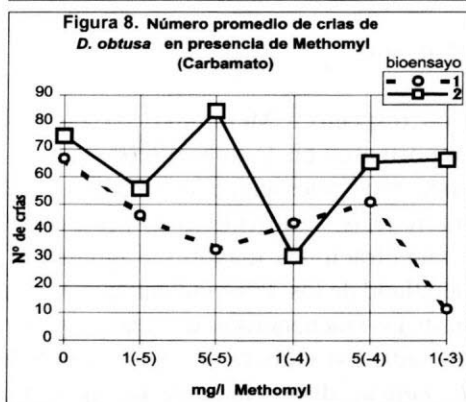
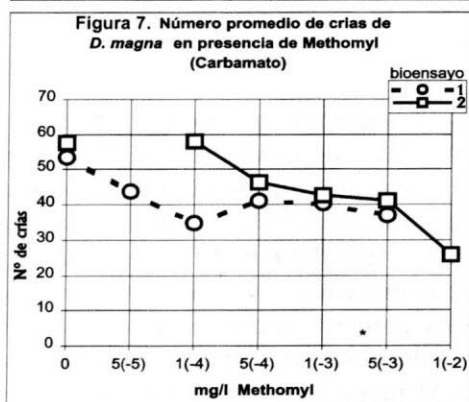
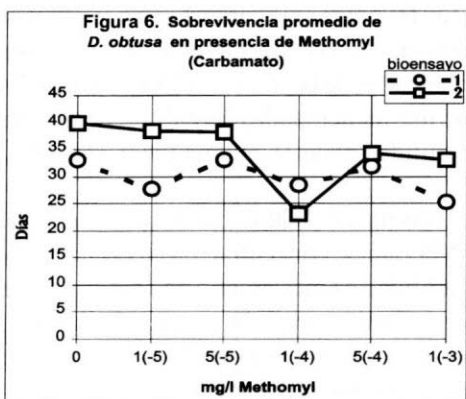
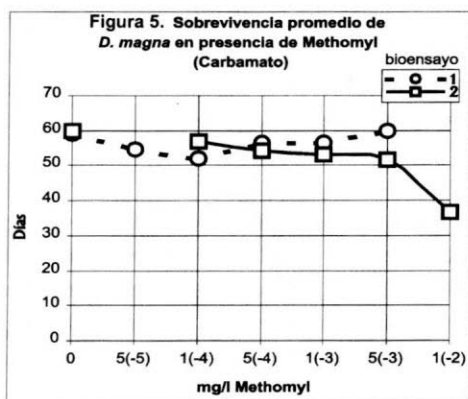
Al comparar LOEC con respecto a la  $\text{LC}_{50}$ , para ambas especies, se percibe que el intervalo de concentración en el cual hay efectos negativos sobre la sobrevivencia y la fertilidad es más amplio en *D. obtusa* que en *D. magna*, de lo cual se puede proponer que efectivamente *D. magna* se adapta a pequeñas variaciones con respecto a la  $\text{LC}_{50}$  en la concentración de  $\text{Cr}^{+6}$ , en tanto que *D. obtusa* no tiene capacidad de respuesta ante este contaminante.

### Methomyl

Con respecto a Methomyl, las Figuras 5 y 6 muestran que no hay diferencias importantes en la sobrevivencia de los animales expuestos al tóxico, aún en concentraciones iguales o cercanas a la  $\text{LC}_{50}$ . Los análisis estadísticos sólo detectaron diferencias significativas con respecto al control, en la respuesta de *D. magna* a concentraciones mayores e iguales a  $5 \times 10^{-3}$  mg/l Methomyl. Un análisis más detallado de los datos indican que en estas concentraciones los animales viven bien hasta los cincuenta días de vida, y a partir de ese momento se presenta una mortalidad elevada. Esto quiere decir que si bien hay reducción en la expectativa de vida de *D. magna*, dependiente de la exposición a Methomyl, esta se presenta en la fase tardía del ciclo de vida, cuando los animales ya han podido aportar su cuota de descendientes.

En relación con la fertilidad, en la Figura 7 se puede apreciar, para *D. magna*, una reducción gradual (20 - 30%) en el número de crías de los animales expuestos a las mayores concentraciones. De acuerdo con los resultados de la prueba de Dunnett, hay diferencias con el control en el número de crías obtenido a  $5 \times 10^{-3}$  mg/l de Methomyl y por tanto se propone este valor como el LOEC para fertilidad en esta especie. Con base en los cambios poco perceptibles sobre el ciclo de vida de *D. magna* expuesta a Methomyl, puede decirse que si bien es una sustancia que afecta letalmente a los cladóceros en concentraciones del orden de 0.01 mg/l, por debajo de la  $\text{LC}_{50}$  el efecto del tóxico es leve.

En el caso de *D. obtusa* (Figura 8) el Methomyl no provocó una respuesta predecible en el número de crías de los animales expuestos a diferentes concentraciones del tóxico y por tanto no es posible establecer, si hay o no, efecto de este carbamato en el ciclo de vida de la especie. Los resultados de las pruebas crónicas (Tabla 4) indican que también en exposiciones a largo plazo *D. obtusa* es más sensible a la presencia de  $\text{Cr}^{+6}$ , pero no sucede igual con Methomyl, sustancia ante la cual esta especie presentó amplias variaciones interindividuales en el ciclo de vida.



Los valores presentados en la Tabla 4 muestran que la concentración a la cual el  $\text{Cr}^{+6}$  induce cambios negativos (LOEC) en la expectativa de vida y en la fertilidad de *D. magna* es la misma, 0.28 mg/l. En *D. obtusa* se observa algo similar; cantidades iguales a 0.014 mg/l de  $\text{Cr}^{+6}$  reducen significativamente la vida de los organismos y el potencial reproductivo de los que llegan a la etapa adulta. El que no existan diferencias en las concentraciones de  $\text{Cr}^{+6}$  que alteran la supervivencia y reproducción de cada una de las especies de *Daphnia*, sugiere que la pérdida de potencial reproductivo es una consecuencia directa de la muerte temprana y no un efecto dependiente del modo de acción de este metal pesado sobre el proceso reproductivo.

No sucede lo mismo con Methomyl, pues aunque el VC para las dos variables es el mismo, los datos indican que si bien *D. magna* puede sobrevivir en cantidades un orden de magnitud inferiores a la  $\text{LC}_{50-48\text{h}}$  a tal concentración la reposición de individuos baja en un 25%. Aunque el efecto sobre la fertilidad no es severo, los datos crudos indican que en presencia de Methomyl a concentraciones superiores a  $5 \times 10^{-3}$  mg/l *Daphnia* deja de reproducirse, quizás como resultado de una acción directa del tóxico sobre las gónadas o por un tributo energético que se hace desde la reproducción a la supervivencia.

Tabla 4. Valores de NOEC, LOEC y VC de  $\text{Cr}^{+6}$  y Methomyl (carbamato) para dos especies de *Daphnia*.

	Ex. Vida	Fertilidad	Ex. Vida	Fertilidad
$\text{Cr}^{+6}$ (mg/l)				
	<i>D. magna</i>		<i>D. obtusa</i>	
NOEC	0.14	0.14	0.007	0.007
LOEC	0.28	0.28	0.014	0.014
VC	0.2	0.2	0.01	0.01
Methomyl (mg/l)				
	<i>D. magna</i>		<i>D. obtusa</i>	
NOEC	$1 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-3}$	-
LOEC	$5 \times 10^{-3}$	$5 \times 10^{-3}$	-	-
VC	$2.2 \times 10^{-3}$	$2.2 \times 10^{-3}$		

NOEC: Máxima concentración no efectiva; LOEC: Mínima concentración en la que se observan efectos, VC: Valor crónico, promedio geométrico de NOEC y LOEC

La respuesta de *D. obtusa* ante methomyl fue desigual tanto entre bioensayos como en los tratamientos, por lo cual no se pudo determinar con el margen de confiabilidad adecuado el valor LOEC. Tal como se ve en la Tabla 4 el único valor que se reporta es el NOEC para sobrevivencia, que se encuentra dentro del mismo orden de magnitud que el de la  $\text{LC}_{50}$ , en relación de 5:1 ( $\text{LC}_{50}$  : NOEC). Al comparar los valores crónicos de  $\text{Cr}^{+6}$  para cada especie, se establece que en términos absolutos *D. obtusa* es más vulnerable a la presencia de  $\text{Cr}^{+6}$ , y también lo es en términos de valores relativos a la  $\text{LC}_{50-48\text{h}}$  pues el intervalo de concentraciones en las que se presenta daño significativo sobre la especie es más amplio en *D. obtusa* ( $\text{D LC}_{50} - \text{VC} = 30$ ) que en *D. magna* ( $\text{D LC}_{50} - \text{VC} = 15$ ). En términos de protección ambiental la diferencia entre  $\text{LC}_{50}$  y VC indica que para *D. obtusa* especie común en los ambientes acuáticos de la región andina el valor seguro está alrededor de  $0.225 \text{ LC}_{50-48\text{h}} \text{ Cr}^{+6}$  y para *D. magna* es aproximadamente  $0.57 \text{ CL}_{50-48\text{h}}$ . Este dato refuerza la percepción de *D. obtusa* como un organismo muy susceptible a la presencia de  $\text{Cr}^{+6}$ .

Si se recuerda que para *D. magna* la  $\text{LC}_{50-48\text{h}}$  de Methomyl fue del orden de  $1 \times 10^{-2}$  mg/l, y se compara este valor con el LOEC propuesto para la esperanza de vida, igual a  $5 \times 10^{-3}$  mg/l, se percibe que en términos de sobrevivencia a largo plazo, concentraciones equivalentes a la mitad de la concentración letal media, alteran negativamente el ciclo de vida de estos animales, particularmente en la fase tardía. El valor seguro para esta especie equivale a 0.22 de  $\text{LC}_{50-48\text{h}}$  Methomyl.

El porcentaje de reducción de la fertilidad en la concentración efectiva de Methomyl oscila alrededor del 30%, que comparado con la reducción de 60% observada con  $\text{Cr}^{+6}$  es una pérdida leve, de lo cual se deduce que el efecto del Methomyl es menos drástico que el de  $\text{Cr}^{+6}$  en relación con la reposición de individuos y la permanencia de las poblaciones de *D. magna*. En términos relativos *D. magna* tolera la presencia de  $\text{Cr}^{+6}$ , y Methomyl en concentraciones cercanas a la  $\text{LC}_{50}$  y *D. obtusa* es muy sensible al metal pesado, razón por la cual se considera que la especie nativa debe ser empleada en el monitoreo de vertimientos que contengan cromo. Para Methomyl, los resultados obtenidos hasta el momento indican que la especie monitorea debe ser *D. magna*.

## CONCLUSIONES

En términos absolutos *D. obtusa* fue la especie más sensible, pues las concentraciones necesarias para inducir efecto observable o letal fueron 10 veces menores en el caso del  $\text{Cr}^{+6}$ , y la mitad en el caso de Methomyl, que las empleadas para obtener un efecto equivalente en *D. magna*.

En condiciones de laboratorio, bajo un fotoperiodo constante de 16:8 (L:O), a una temperatura de 20 °C, la  $\text{LC}_{50-48\text{h}}$  de  $\text{Cr}^{+6}$  fue 0.35 mg/l para *D. magna* y 0.04 mg/l para *D. obtusa*. La  $\text{LC}_{50-48\text{h}}$  de Methomyl fue 0.010 mg/l para *D. magna* y 0.005 mg/l  $\text{Cr}^{+6}$  para *D. obtusa*.

En las dos especies de *Daphnia* el  $\text{Cr}^{+6}$  actúa directamente sobre la esperanza de vida, y el descenso en la fertilidad parece ser una consecuencia indirecta de la mortalidad temprana en concentraciones superiores al valor crónico. En presencia de Methomyl, la reducción en la esperanza de vida y la fertilidad de *D. magna* no fue severa, pero las dos variables se ven directamente afectadas por la presencia del carbamato en concentraciones cercanas a la mitad de la  $\text{CL}_{50-48\text{h}}$ .

En las condiciones de laboratorio ya mencionadas, y bajo dieta, pH y oxígeno constante, el valor crónico de  $\text{Cr}^{+6}$  para *D. magna* fue 0.20 mg/l y el de *D. obtusa* fue 0.009 mg/l. Con Methomyl el VC calculado para *D. magna* fue  $2.2 \times 10^{-3}$ .

De las variables propuestas para observar el efecto de las sustancias estudiadas, resultaron apropiadas la sobrevivencia en el corto y largo plazo, y la fertilidad, medida a través del número de crías totales. El periodo de maduración no registró cambios en ninguna de las dos especies.

En exposiciones a largo plazo se observó diferencia en la sensibilidad de las especies según el tipo de sustancia. En las pruebas crónicas, *D. obtusa* fue más vulnerable a la presencia de  $\text{Cr}^{+6}$ , en tanto que *D. magna* aparenta resolver mejor las limitaciones impuestas por este contaminante. En el caso de Methomyl, la respuesta observada en

exposiciones prolongadas a concentraciones inferiores a la letal, sugieren que *D. obtusa* se adapta a la presencia de este carbamato con mayor eficacia que *D. magna*.

Al comparar las respuestas obtenidas con las dos especies estudiadas se establece que *D. magna* es una especie de comportamiento más estandarizado en condiciones de laboratorio, en tanto que *D. obtusa* parece ser una especie susceptible a ligeros cambios en las condiciones del ambiente de laboratorio, lo cual se constituye en una limitación de la especie para la obtención de resultados confiables en pruebas de toxicidad.

Teniendo en cuenta las potencialidades y limitaciones se considera que *D. obtusa* es una especie adecuada para la evaluación del efecto de metales pesados, y *D. magna* para el estudio de los carbamatos.

## BIBLIOGRAFIA

- ALMANZA G. 1995. Evaluación del umbral de toxicidad de una sustancia en un proceso biológico mediante la determinación de la disminución de las tasas de utilización de sustrato y consumo de oxígeno. Tesis postgrado Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional
- APHA, 1994. Standard Methods for the examination of water and waste water 18th edition. Washington D.C.
- CAIRNS J. 1985. Evaluating the options for water quality management. Water Resources Bulletin vol 21(1).
- CAR - UN. 1996. Estandarización de bioensayos para la cuenca alta del río Bogotá. Informe técnico Laboratorio de Aguas CAR.
- CÉSPEDES J. 1991. Cromo. En Toxicología 2 ed. Dario Cordoba editor. Medellín.
- DEPLEDGE M.H. 1990. New approaches in ecotoxicology: Can inter-individual physiological variability be used as a tool to investigate pollution effects ?. Ambio 19(5) pp 251-252.
- DODSON S.I & T. HANAZATO. 1996. Commentary on effects of anthropogenic and natural organic chemicals on development, swimming behavior and reproduction of *Daphnia*. EHP vol 103, supplement 4.
- EPA. ed. by Lewis Ph. *et al.* 1994. Short term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to fresh water organisms. 3 edición.
- EXTOXNET, 1993. Pesticide information project - Methomyl.

- GEIGER J.G., A.L. BUIKINEMA & J. CAIRNS. 1980. A tentative seven-day test for predicting effects of stress on populations of *Daphnia pulex*. In Proceedings of Aquatic toxicology.
- GULLEY D., A. BOELTER & H. BERGMAN. 1994. TOXSTAT. Fish Physiology and Toxicity Lab. Department of Zoology, U. of Wyoming.
- HILL E. 1990. Organophosphorus and carbamate pesticides. En Handbook of Ecotoxicology, Hoffman, D., B. Rattner, G. Allen & J. Cairns. 1995. Handbook of ecotoxicology. Lewis Publishers.
- HOYOS L. 1995. Estandarización de bioensayos con *Daphnia magna* para la evaluación de toxicidad en aguas contaminadas. Tesis postgrado Microbiología, Universidad Nacional
- KAPLAN M.A. & H. SHERMAN. 1977. Toxicity studies with methyl N-[[methylamino)carbony]oxy]-ethanimidothioate. Toxicology and Applied Pharmacology 40: 1-17.
- Ministerio de Salud, República de Colombia. 1984. Decreto 1594
- MORIARTI J. 1990. Ecotoxicology. Am. Publishers.
- MURILLON., 1997. Evaluación de la toxicidad de dos metales pesados sobre *Pannaegrellus redivivus*. Tesis postgrado Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional.
- PLAZAS A.V. 1994. Estudio del efecto del cromo hexavalente y del cobre sobre el crecimiento de *E. coli* y *B. cereus*. Tesis postgrado Microbiología, Universidad Nacional.
- REISH D.J. & P.S. Oshida. 1984. Manual of methods in aquatic environment research. FAO Fis. Tech. pap 247.
- USEPA. 1989. Registration standard for pesticide products containing methomyl as the active ingredient. Washington, D.C.
- WILSON M.D. 1992. A comparative analysis of toxicity indications utilizing *Daphnia magna* and the Microtox toxicity analice on a municipal waste water effluent. U.M.I.