

## Protocolo de bioensayo ecotoxicológico para evaluar metales pesados contaminantes de agua dulce con *Chironomus calligraphus* (Diptera: Chironomidae) y *Moina macrocopa* (Crustacea: Cladocera), en el Río Rímac, Lima, Perú

José A. Iannacone<sup>1</sup> William E. Dale<sup>2</sup>

### RESUMEN

IANNACONE JA, DALE WE. 1999. Protocolo de bioensayo toxicológico para evaluar metales pesados contaminantes de agua dulce con *Chironomus calligraphus* (Diptera: Chironomidae) y *Moina macrocopa* (Crustacea: Cladocera), en el Río Rímac, Lima, Perú. Rev. per. Ent. 41.- Se presenta los detalles experimentales que definieron el protocolo final de un bioensayo que estima el grado de contaminación del agua por arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo. La Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>) hallada, medida en mg/litro de agua, a las 48 h de exposición, para larvas I de *Chironomus* es de 11,73 arsénico; 0,28 de cadmio; 0,03 de cobre; 0,02 de mercurio; y 77,18 de plomo. Para neonatos de *Moina* es de 3,97 de arsénico; 0,05 de cadmio; 0,003 de cobre; y 0,017 de mercurio. Se detalla el procedimiento de recolección, preservación y dilución de las muestras de agua a ser procesadas, la obtención de los organismos estandarizados para la prueba, el criterio de mortandad, la transformación probit y la determinación de la CL<sub>50</sub>.

Palabras clave: bioensayo, *Chironomus*, contaminación de agua, metales pesados, *Moina*, Perú.

### SUMMARY

IANNACONE JA, DALE WE. 1999. Ecotoxicological assay protocol to evaluate heavy metal freshwater pollution using *Chironomus calligraphus* (Diptera: Chironomidae) and *Moina macrocopa* (Crustacea: Cladocera) in the Río Rímac, Lima, Peru. Rev. per. Ent. 41.- The final protocol of a bioassay to estimate the degree of freshwater pollution with arsenic, cadmium, copper, mercury and lead is presented herein. The median Lethal Concentration (LC<sub>50</sub>) in mg ion/liter of water after 48 hr exposure in *Chironomus* larvae is 11,73 arsenic; 0,28 cadmium; 0,03 copper; 0,02 mercury; and 77,18 lead. For *Moina* neonates is 3,97 arsenic; 0,05 cadmium; 0,003 copper; and 0,017 mercury. Procedures for collection, preservation and dilution of water samples, rearing procedure to standardize organisms, mortality criteria, probit transformation, and LC<sub>50</sub> determination are also provided.

Key words: bioassay, *Chironomus*, heavy metals, *Moina*, Peru, water pollution.

### Introducción

Por muchos años, toxicólogos, biólogos y ecólogos han estado interesados en los efectos biológicos que las sales de metales pesados disueltos tienen en la calidad del ambiente. Estos productos causan la destrucción de organismos, modifican ecosistemas acuáticos continentales y marinos, y ocasionan daño a la salud pública. Se señala que los metales pesados,

por no presentar degradación biológica ni química, y ser bioacumulables, están considerados entre los contaminantes más peligrosos (MARTIN & HOLDICH 1986, CAMPOS 1987, MCCAHOON *et al.* 1991, JACKSON & KALFF 1993, VALENT *et al.* 1993, MERIAN 1994).

El incremento de la contaminación de los recursos acuáticos requiere el desarrollo de procedimientos de detección más eficientes (SLABERT & MORGAN 1982). Los contaminantes dulceacuícolas han sido monitoreados principalmente por técnicas físicas y químicas (BREZONIK 1974, HATTINGH 1979). Sin embargo, en algunas ocasiones estas técnicas son consideradas poco prácticas e inadecuadas, pues no proporcionan información de ciertos compuestos desconocidos, ni su efecto en el hombre y en el ecosistema acuático (CAIRNS & GRUBER 1979). La alternativa es el empleo de

<sup>1</sup> Laboratorio de Ecofisiología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Universidad Nacional Federico Villarreal, Calle San Marcos 383, Lima-21, Perú. E-mail: fennu@computextos.com.pe.

<sup>2</sup> Escuela de Post-Grado, Departamento de Entomología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Apartado 456, Lima-100, Perú. E-mail: wdale@umalm.edu.pe.

bioensayos o modelos biológicos indicadores de toxicidad, que han llegado a ser una alternativa importante en la predicción y control de la contaminación del agua (CAIRNS *et al.* 1977), habiendo sido recomendados por la Environmental Protection Agency (EPA) de EE. UU. (APHA 1989). En dichos bioensayos comúnmente se usa miembros de la cadena de alimentación acuática, tales como peces (PRICE 1978, SEGNER *et al.* 1994), artrópodos (IDONIBOYE-OBU 1977, MARSHALL 1979, NUMELLIN *et al.* 1998), rotíferos (SNELL *et al.* 1991, FERRANDO *et al.* 1993), protozoarios (RUTHVEN & CAIRNS 1973), algas (WONG *et al.* 1979) y bacterias (ANDERSON & ABDELGHANI 1980, Kool *et al.* 1979, SUSSMUT *et al.* 1992).

En este trabajo se ha investigado la susceptibilidad a metales pesados de dos especies de invertebrados que habitan la cuenca del Río Rímac, en el departamento de Lima, Perú, ya que este río atraviesa la zona altamente poblada e industrializada de la ciudad de Lima, y recibe permanentemente diferentes clases de descargas contaminantes, en particular sales de metales (IANNACONE *et al.* 1997).

Los invertebrados estudiados son *Chironomus calligraphus* (Diptera: Chironomidae) y *Moina macrocopa* (Crustacea: Cladocera), siendo el primero bentónico durante la mayor parte de su fase larval y el segundo planctónico en el ecosistema dulceacuicola.

El presente trabajo tuvo como objetivo utilizar ambos organismos en un procedimiento de bioensayo ecotoxicológico y, en base al mismo, efectuar un análisis de la susceptibilidad de estos organismos a la acción individual del arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo.

## Materiales y métodos

Las masas de huevos de *Chironomus* se obtuvieron en la laguna secundaria de la Planta de Aguas Residuales de Carapongo, Servicio de Agua Potable y Alcantarillado de Lima (SEDAPAL), en el valle del Rímac. El género fue identificado a nivel larval, pupal y de adulto, por medio de las claves de MERRITT & CUMMINS (1984) y la especie fue determinada como *Chironomus calligraphus* Goeldi (SPIES & REISS 1996). Ejemplares testigo de la especie fueron depositados en el Museo de Entomología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, con los números de registro 645-93 y 646-93.

El cladóceros se recolectó en la laguna secundaria de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de SEDAPAL y la especie fue identificada como *Moina macrocopa* (STREBLE & KRAUTER 1987).

## Cría estandarizada de los organismos prueba

Las masas de huevos de *Chironomus* se colocaron en un medio a base de hojas de cereal "Cereal Leaves"® (Sigma Chemical Company) St. Louis, MI, EE. UU.). Las larvas recién eclosionadas fueron alimentadas dos veces por semana y se mantuvieron a temperatura entre 19 y 24°C y oxígeno disuelto adecuado, de 5-8 mg/l. Sobre el envase de cría se colocó una rejilla para retener los adultos de los mosquitos (APHA 1989, KNIGHT & WALLER 1992).

Los ejemplares de *Moina* se cultivaron en agua de dilución a base de 5 g de excremento seco de ovino y 25 g de tierra de jardín en 1,0 l de agua destilada. La mezcla se dejó por dos días a temperatura entre 20 y 24°C, filtrándose con una malla con aberturas de 0,15 mm. El filtrado del preparado permitió preparar el agua de dilución final, mezclada con agua de los filtros de La Atarjca, SEDAPAL. Finalmente, se agregó 1,0 mg de levadura y fueron alimentados con el alga *Chlorella* (APHA 1989).

## Pruebas de susceptibilidad de los organismos a las sales de metales

Cada experimento en *Chironomus* se inició con larvas de primer estadio dentro de las 24 h de haber eclosionado los huevos. Diez larvas se distribuyeron al azar para cada concentración, en cada una de las cuatro repeticiones. Las larvas no se alimentaron durante el ensayo y fueron consideradas muertas si no eran capaces de moverse coordinadamente al ser pinchadas con un alfiler.

Los experimentos en *Moina* se realizaron en cohortes con menos de 24 h, extraídas al azar de los frascos con hembras oviplenas. Los neonatos no se alimentaron durante la duración del bioensayo.

Los individuos sin latidos cardiacos fueron considerados muertos (BUHL *et al.* 1993).

## Validación de la técnica de bioensayo modificado

Las soluciones stock de los iones de metales se prepararon disolviendo en agua destilada dentro de fioles de 1,0 l las siguientes sales:

- Arseniato de sodio [ $\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ]
- Cloruro de cadmio [ $\text{CdCl}_2$ ]
- Sulfato de cobre pentahidratado [ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ]
- Cloruro de mercurio [ $\text{HgCl}_2$ ]
- Nitrato de plomo [ $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ].

Estas, excepto el nitrato de plomo, estuvieron a una concentración de 100 mg/l en la solución stock; en el caso de la sal de plomo, la concentración fue de 200 mg/l.

### Físico-química del agua

El oxígeno disuelto y el pH se midieron en dos réplicas al inicio del ensayo y cada 24 h. El pH para los afluentes fue ajustado para todos los casos a 7,0 con una solución de NaOH 0,1M o con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1M. El agua de dilución usada para cada prueba de toxicidad se preparó en base a una solución amortiguadora (buffer-fosfato de pH 7) (APHA 1989).

### Diseño experimental y análisis de las muestras

Se condujo ensayos estáticos de toxicidad aguda a las 24 y 48 h de exposición con arsénico, mercurio, cadmio y cobre para ambos organismos y solamente con plomo para *Chironomus*.

Las pruebas de ecotoxicidad aguda se realizaron en cuatro repeticiones con cinco concentraciones nominales en un diseño en Bloque Completamente Randomizado (BCR).

La eficacia de los tratamientos se evaluó a través de un Análisis de Varianza (ANVA) de una vía, previa transformación de los datos a raíz cuadrada del arcoseno. En el caso de existir diferencias significativas entre las repeticiones se realizó una prueba de Tukey (DANIEL 1993).

La CL<sub>50</sub> y sus límites de confianza al 95% se calcularon usando un programa computarizado de la EPA, versión 1.4. Los resultados de las repeticiones fueron sumados. Se realizó un análisis estadístico usando el coeficiente de concordancia de Kendall, para mostrar la sensibilidad de los dos organismos ensayados con otros seis bioensayos ecotoxicológicos estandarizados (ZAR 1984).

Se llevó a cabo una matriz de correlación de Pearson usando los valores de la CL(E)<sub>50</sub> a 48 h entre los dos modelos biológicos propuestos, con otros seis ensayos de ecotoxicidad estandarizados, para deducir si existe adecuada correlación positiva entre la nueva técnica con otras ya estandarizadas.

### Resultados y discusión

#### Pruebas de susceptibilidad de los organismos a las sales de metales

Las figs. 1-5 muestran la relación entre la concentración de los metales pesados (mg/l) y la mortalidad de *Chironomus*, y las figs. 6-9 aquella de *Moina*. Los valores de CL<sub>50</sub> con arsénico sobre *Chironomus* a las 24 y 48 h fueron 15,61 (12,88-19,24) y 11,73 (9,65-13,90). A las 48 h el valor de toxicidad aumentó 1,33 veces comparado con 24 h (fig. 1). Para *Moina* los valores de CL<sub>50</sub> a las 24 y 48 h fueron 7,77 (2,92-37,18) y 3,97 (2,88-5,89). A las 48 h el valor de toxicidad aumentó 1,95 veces

comparado con 24 h (fig. 6). *Chironomus* presenta una sensibilidad al As<sup>+5</sup> a 48 h de exposición mayor que la trucha, guppy y la prueba Microtox en un orden de magnitud, y una sensibilidad menor, pero del mismo orden de magnitud, que las pulgas de agua *Daphnia* (tabla 1) En cambio, *Moina* es la especie más sensible al arsénico, a 48 h de exposición.

Para *Chironomus* los valores de CL<sub>50</sub> con cadmio a las 24 y 48 h fueron 3,67 (0,71-6,45) y 0,28 (0,08-0,48). A las 48 h el valor de toxicidad aumentó 12,7 veces comparado con 24 h (fig. 2). Para *Moina* los valores de CL<sub>50</sub> a las 24 y 48 h fueron 0,86 (0,22-1,43) y 0,05 (0,01-0,15). A las 48 h el valor de toxicidad aumentó 17,2 veces comparado con 24 h (fig. 7). Con relación a Cd<sup>+2</sup>, *Chironomus* presentó un valor de CL<sub>50</sub> a 48 h del mismo orden de magnitud que los bioensayos ecotoxicológicos con guppy y trucha, pero con una mayor sensibilidad (tabla 1). La larva del mosquito presentó una sensibilidad mayor que el rotífero *Brachionus* en dos órdenes de magnitud, al igual que para Microtox. La comparación con la prueba de inhibición bacteriana de *Pseudomonas fluorescens*, presentó una toxicidad mayor en un exponente. En cambio, *Moina* presentó un grado de sensibilidad mayor en uno o más órdenes exponenciales al Cd<sup>+2</sup> que todas las otras especies, excepto para *Daphnia*, que exhibió una mayor sensibilidad pero del mismo orden de magnitud.

En *Chironomus*, los valores de CL<sub>50</sub> con cobre a las 24 y 48 h fueron 0,28 (0,23-0,34) y 0,03 (0,01-0,05). A las 48 h el valor de toxicidad aumentó 9,33 veces comparado con 24 h (fig. 3). En *Moina*, los valores de CL<sub>50</sub> a las 24 y 48 h fueron 0,007 (0,005-0,009) y 0,003 (0,001-0,005). A las 48 h el valor de toxicidad aumentó 2,33 veces comparado con 24 h (fig. 8). El catión Cu<sup>+2</sup> resultó ser altamente tóxico para *Chironomus*, ubicándose en tercer lugar (tabla 1). *Chironomus* presentó una sensibilidad mayor que el rotífero, guppy, trucha, Microtox y *Pseudomonas* siendo, en comparación con esta última, de mayor sensibilidad en tres exponentes. Para *Moina* el Cu<sup>+2</sup> presentó el mas alto grado de toxicidad comparado con los otros siete modelos biológicos, inclusive *Daphnia*, en un orden de magnitud mayor.

Para *Chironomus*, los valores de CL<sub>50</sub> con mercurio a las 24 y 48 h fueron 0,13 (0,07-0,20) y 0,02 (0,01-0,04). A las 48 h el valor de toxicidad aumentó 6,5 veces comparado con 24 h (fig. 4). En *Moina*, los valores de LC<sub>50</sub> a las 24 y 48 h fueron 0,027 (0,021-0,033) y 0,017 (0,009-0,031). A las 48 h el valor de toxicidad aumentó 1,58 veces comparado con 24 h (fig.9). En *Chironomus*, el catión Hg<sup>+2</sup> resultó más tóxico que los otros metales evaluados y

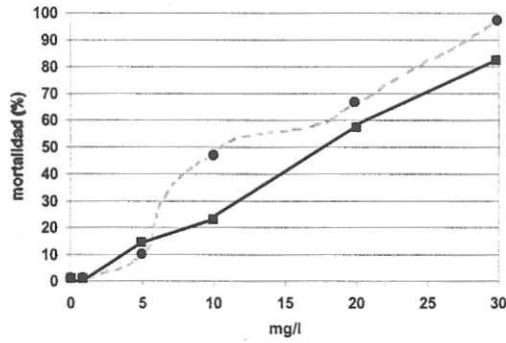


FIGURA 1.- Toxicidad aproximada del arsénico sobre *Chironomus calligraphus*.

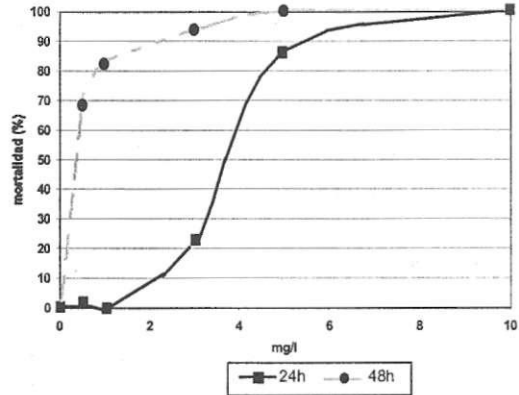


FIGURA 2.- Toxicidad aproximada del cadmio sobre *Chironomus calligraphus*.

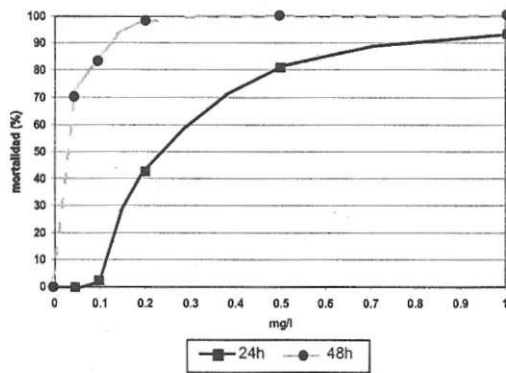


FIGURA 3.- Toxicidad aproximada del cobre sobre *Chironomus calligraphus*.

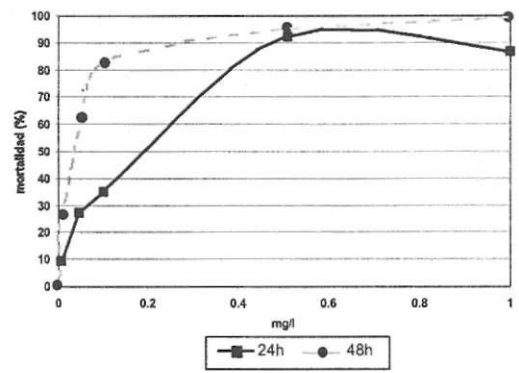


FIGURA 4.- Toxicidad aproximada del mercurio sobre *Chironomus calligraphus*.

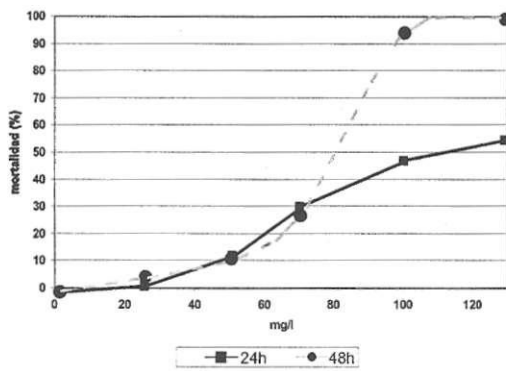


FIGURA 5.- Toxicidad aproximada del plomo sobre *Chironomus calligraphus*.

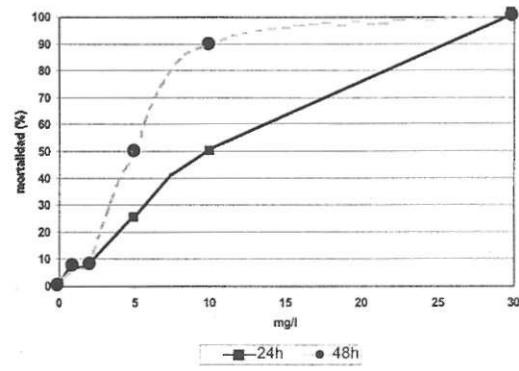


FIGURA 6.- Toxicidad aproximada del arsénico sobre *Moina macrocopa*.



además fue la segunda especie más sensible, incluso más que *Daphnia*, siendo *Moina* la más sensible de todas (tabla 1).

Para *Chironomus*, los valores de  $CL_{50}$  con plomo a las 24 y 48 h fueron 113,03 (91,5-157,5) y 77,18 (69,92-83,18). A las 48 h el valor de toxicidad aumentó 1,46 veces comparado con 24 h (fig. 5) La tabla 2 compara la sensibilidad al plomo de *Chironomus*, a 48 h de exposición, frente a 14 modelos biológicos diferentes.

#### Protocolo del bioensayo estandarizado con *Chironomus* y *Moina*

La fig. 10 muestra el protocolo propuesto. La estandarización de la crianza es importante, pues permite tener una cohorte de individuos de una misma edad a la eclosión. Si estos organismos no se crían con parámetros definidos, la respuesta frente a las sustancias tóxicas puede variar, disminuyendo la eficiencia del bioensayo (MUNKITTRICK *et al.* 1991). El que se haya estandarizado el pH a 7,0 al inicio del ensayo sigue la metodología utilizada por VALENT *et al.* (1993). El conteo de individuos al finalizar la prueba requiere conocer adecuadamente ambas especies.

#### Ventajas y limitaciones del nuevo protocolo con relación a los demás diseñados, en particular con los del mismo tipo

La tabla 1 presenta una lista con datos comparativos entre los valores de toxicidad aguda de  $CL_{50}$  o  $CE_{50}$  con cuatro metales pesados (arsénico, cadmio, cobre y mercurio) en *Chironomus*, *Moina*, *Brachionus*, *Daphnia*, el pez guppy *Poecilia reticulata*, la trucha *Oncorhynchus mykiss*, la prueba Microtox, y la prueba de inhibición del crecimiento de *Pseudomonas fluorescens*. *Moina* es la especie más susceptible para los cuatro metales evaluados, siguiéndole *Daphnia*, *Chironomus*, Microtox, trucha, guppy, *Brachionus* y *Pseudomonas*.

La tabla 3 muestra el grado de correlación entre ocho modelos biológicos, existiendo una excelente correlación positiva entre *Chironomus* y *Moina* ( $r=0,99$ ); el ensayo Microtox mostró una correlación positiva con *Chironomus* ( $r=0,96$ ) y *Moina* ( $r=0,96$ ). Con el rotífero, *Daphnia*, trucha y guppy se encontró una correlación positiva con *Chironomus* ( $r=0,99$ ) y *Moina* ( $r=0,99$ ). Sin embargo, se observa una correlación no significativa con *Pseudomonas*.

*Chironomus* exhibe la siguiente susceptibilidad a metales pesados, en orden de mayor a menor toxicidad: mercurio > cobre > cadmio > arsénico > plomo; en cambio, para *Moina* el ordenamiento es: cobre > mercurio > cadmio >

arsénico. Esta misma secuencia se repite a ambos períodos de exposición. La respuesta de toxicidad aguda por metales pesados para *Daphnia*, Microtox y el guppy presenta el mismo ordenamiento que para *Chironomus* (tabla 1).

La sensibilidad no es el único criterio usado para seleccionar un bioensayo. La facilidad de uso, costo y concordancia ecológica son otros parámetros que deben ser considerados (CRISINEL *et al.* 1994). El criterio de "facilidad de uso" incluye rapidez, simplicidad en el manipuleo, así como en la lectura, disponibilidad del material biológico y volumen de muestra. Los ensayos con bacterias luminiscentes y con partículas submitocondriales son pruebas de más fácil lectura pero con manipuleo poco simple, en comparación con aquellas que emplean invertebrados. *Chironomus* y *Moina* ofrecen la misma rapidez que *Daphnia*. La simplicidad de manipuleo y lectura dependen esencialmente del tamaño de los organismos; a mayor tamaño, mejor será el método. *Chironomus* tiene un tamaño de 0,6-0,8 mm y *Moina* de 0,8-0,9 mm, lo que los hace fácilmente manejables. La disponibilidad de material biológico es una gran ventaja de *Chironomus* sobre *Moina* y *Daphnia*. El ensayo con bacterias luminiscentes requiere una buena provisión de la cepa bacteriana *Vibrio fischeri* y el ensayo con partículas submitocondriales requiere una adecuada cantidad de material biológico. Con relación al volumen de muestra, el ensayo Microtox y el de partículas submitocondriales necesitan sólo una pequeña cantidad de muestra (10 ml), pudiendo ser ésto una ventaja sobre los bioensayos con los tres invertebrados.

El criterio de costo incluye lo invertido en materiales y los gastos del trabajo. Respecto al costo, usar *Chironomus* y *Moina* es menos caro que el ensayo Microtox y el de partículas submitocondriales. El cultivo de *Daphnia* es más costoso que el de *Chironomus* o *Moina*.

La concordancia ecológica favorece principalmente a *Chironomus*, luego a *Daphnia* y a *Moina*, con respecto a su importancia en las cadenas de alimentación (CRISINEL *et al.* 1994). En cambio, el Microtox y partículas submitocondriales son modelos biológicos que carecen de realismo ecológico (ANKLEY *et al.* 1990).

#### Conclusiones

La susceptibilidad de larvas I de *Chironomus* según este protocolo sigue el siguiente orden decreciente: mercurio > cobre > cadmio > arsénico > plomo. Para neonatos de *Moina* el orden es: cobre > mercurio > cadmio > arsénico. *Moina*

TABLA 2.- Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) al plomo

Ensayo ecotoxicológico	Tiempo de exposición	CL(E) <sub>50</sub> mg/l
Partículas mitocondriales (KNOBELOCH <i>et al.</i> 1990)	30 min	2
<i>Escherichia coli</i> Ensayo microcalorimétrico (MCGUINNESS & BARISAS 1991)	24 h	0,32
<i>Escherichia coli</i> , Electrodo (MCGUINNESS & BARISAS 1991)	1 h	0,13
<i>Vibrio fischeri</i> (Microtox) (BITTON & DUTKA 1994)	15 min	5
<i>Brachionus plicatilis</i> (BURKANK & SNELL 1994)	24 h	>4
<i>Daphnia magna</i> (MUNKITTRICK <i>et al.</i> 1991)	48 h	2,4
<i>Misidiopsis bahia</i> (NACCI <i>et al.</i> 1986)	24 h	3
<i>Culex quinquefasciatus</i> (IANNACONE & ALVARIÑO 1996b)	24 h	47,71
<i>Arbacia punctulata</i> , células espermáticas (NACCI <i>et al.</i> 1986)	24 h	5,4
<i>Arbacia punctulata</i> , embriones (NACCI <i>et al.</i> 1986)	24 h	32,5
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (MUNKITTRICK <i>et al.</i> 1991)	96 h	1,2
<i>Poecilia reticulata</i> (IANNACONE & ALVARIÑO 1996a)	24 h	31,53
Hela, cultivo de células (MCGUINNESS & BARISAS 1991)	48 h	0,26
<i>Chironomus calligraphus</i> ORIGINAL	48 h	77,18

TABLA 3.- Matriz de correlación de Pearson: Grado de asociación entre los valores de toxicidad aguda (CL<sub>50</sub>) de los cuatro metales pesados con ocho modelos biológicos.

	<i>Chironomus</i>	<i>Moina</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Poecilia</i>	<i>Oncorhynchus</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Brachionus</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Chironomus</i>	1							
<i>Moina</i>	0,99**	1						
<i>Daphnia</i>	0,99**	0,99**	1					
<i>Poecilia</i>	0,99**	0,99**	0,99**	1				
<i>Oncorhynchus</i>	0,99**	0,99**	0,99**	0,99**	1			
<i>Vibrio</i>	0,96*	0,96*	0,95*	0,96*	0,95*	1		
<i>Brachionus</i>	0,99**	0,99**	-0,5	0,91	-0,91	0,99**	1	
<i>Pseudomonas</i>	-0,44	-0,59	-0,52	-0,08	0,78	-0,459	-0,47	1

\*\* Correlación significativa al 0,01

\* Correlación significativa al 0,05

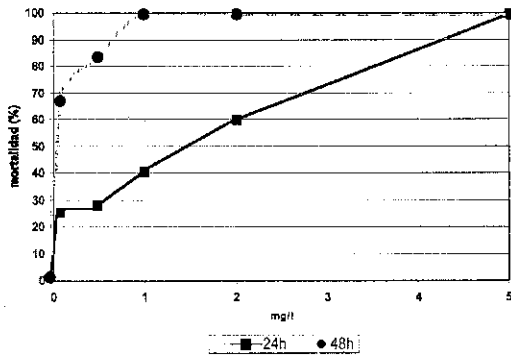


FIGURA 7.- Toxicidad aproximada del cadmio sobre *Moina macrocopa*.

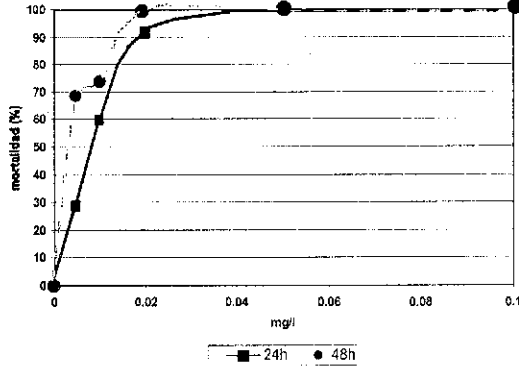


FIGURA 8.- Toxicidad aproximada del cobre sobre *Moina macrocopa*.

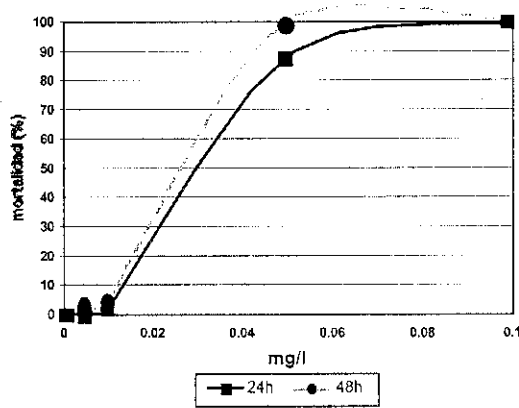


FIGURA 9.- Toxicidad aproximada del mercurio sobre *Moina macrocopa*.

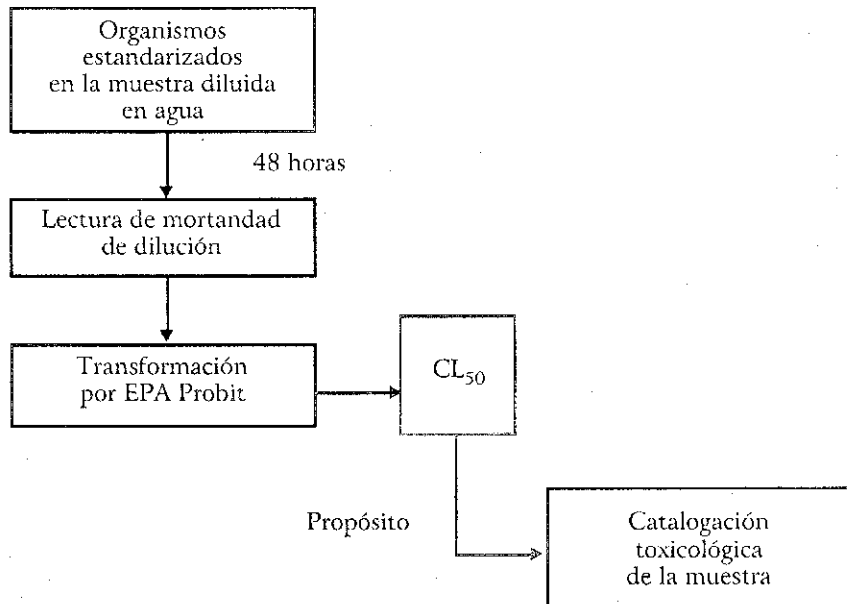


FIGURA 10.- Secuencia del bioensayo.



es más sensible que *Chironomus* a los metales pesados mencionados.

El protocolo usando *Moina* tiene las ventajas comparativas de menor costo de crianza, mayor simplicidad de manipuleo, mayor confiabilidad de lectura de mortalidad y sensibilidad a sales de metales. Además, su realismo ecológico le favorece frente a otros bioensayos. La desventaja relativa es requerir mayor cantidad de muestra de agua que otros ensayos microbiológicos y bioquímicos.

El protocolo empleando *Chironomus* tiene como ventaja principal la abundante y permanente disponibilidad de material biológico, y su realismo ecológico, aunque este organismo mostró menor sensibilidad que *Moina* a los metales pesados y también mayores dificultades en la discriminación de su mortalidad.

*Agradecimientos.*- A la Blga. Lorena Alvaríño F. por su apoyo en el cultivo y manejo de ambos invertebrados. Al Bigo. César Lazcano C. por las facilidades brindadas en el Laboratorio de Biología de La Atarjea, SEDAPAL. A SEDAPAL y CONCYTEC (Proyecto 362-1995) por el apoyo financiero. Al Dr. Wolfgang Wuelker, Institut für Biologie, Freiburg, Alemania por la determinación de *Chironomus calligraphus* a nivel de especie.

*Literatura*

Anderson AC, Abdelghani AA. 1980. Toxicity of selected arsenical compounds in short term bacterial bioassays. *Bull. envir. Contam. Toxicol.* 24: 124-127.

Ankley GT, Peterson GS, Amato JR, Jenson JJ. 1990. Evaluation of sucrose as an alternative to sodium chloride in Microtox assay: Comparison to fish and cladoceran tests with freshwater effluents. *Environ. Toxicol. Chem.* 9: 1305-1310.

APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), WPCF (Water Pollution Control Federation). 1989. Standard methods for examination of water and wastewater. Washington, DC, American Health Association. Ed. 17.

Bitton G, Dutka BJ. 1994. Introduction and review of microbial and biochemical toxicity screening procedures. In: Bitton B, Dutka J (Eds.). *Toxicity testing using microorganisms*. Boca Raton, CRC Press. Vol. 1.

Brezonik PL. 1974. Analysis and speciation of trace metals in water supplies, pp. 167-191. In: Rubin AJ (Ed.), *Aqueous environmental chemistry of metals*. Ann Arbor, Ann Arbor Science.

Buhl KJ, Hamilton SJ, Schmulbach JC. 1993. Chronic toxicity of the bromoxynil formulation buctril to *Daphnia magna* exposed continuously and intermittently. *Arch. environ. Contam. Toxicol.* 25: 152-159.

Burbank SE, Snell TW. 1994. Rapid toxicity assessment using esterase biomarkers in *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Environ. Toxicol. Water Qual.* 9: 171-178.

Cairns J Jr, Dickson KL, Westlake GF. 1977. *Biological monitoring of water and effluent quality*. Philadelphia, American Society for Testing and Materials.

Cairns J Jr, Gruber D. 1979. Coupling mini- and microcomputers to biological early warning system. *BioScience* 29: 665.

Campos K. 1987. Los metales pesados, su contaminación y sus efectos tóxicos. *Contam. ambient.* 9: 63-70.

Colina JC, Pérez-García A, Romero P, De Vicente A. 1993. A comparison of microbial bioassays for the detection of metal toxicity. *Arch. environ. Contam. Toxicol.* 25: 250-254.

Crisinel A, Delaunay L, Rossel D, Tarradellas J, Meyer H, Saiah H, Vogel P, Deslisle C, Blaise C. 1994. Cyst-based ecotoxicological tests using anostracans: Comparison of two species of *Streptocephalus*. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 9: 317-326.

Daniel WW. 1993. *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud*. México, DF, Editorial Limusa, S.A.

Ferrando MD, Janssen CR, Andrew E, Persoone G. 1993. Ecotoxicological studies with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. III. The effects of chemicals on the feeding behavior. *Ecotoxicol. environ. Safety* 26: 1-9.

Hattingh WH. 1979. The chemical composition of water and analytical chemist: A challenge. Port Elizabeth, 26th Conference of the South African Chemical Institute.

Iannacone JA, Alvaríño L. 1996a. Efecto de los metales pesados en la sobrevivencia del pez larvívoro *Poecilia reticulata* (Poeciliidae) "Guppy". Lima, Resúmenes de la V Reunión Científica, ICBAR, UNMSM.

———. 1996b. Tolerancia de la larva del zancudo *Culex quinquefasciatus* a metales contaminantes del medio acuático. *Rev. per. Ent.* 39: 105-110.

Iannacone JA, Gutiérrez AI, Vargas RN. 1997. Ecotoxicidad de la cuenca alta del Río Rímac (Tamboraque y Perubar) utilizando al nemátodo *Panagrellus redivivus* y a la microalga *Chlorella vulgaris*. *Hipótesis* (Lima) 5: 38-45.

Idoniboye-Obu B. 1977. Bioelectric action potentials of *Procambarus acutus acutus* (Girard) in serially diluted solutions of selected C<sub>6</sub> hydrocarbons in water. *Envir. Pollut.* 14: 5-24.

Jackson L J, Kalf J. 1993. Patterns in metal content of submerged aquatic macrophytes: the role of the plant growth form. *Freshw. Biol.* 29:351-359.

Knight, JT, Waller WT. 1992. Influence of the addition of cerophyl on the *Selenastrum capricornutum* diet of the cladoceran *Ceriodaphnia dubia*. *Environ. Toxicol. Chem.* 11 :521-534.

Knobeloch LM, Blondin GA, Harkin JM. 1990. Use of submitochondrial particles for prediction of chemical toxicity in man. *Bull. environ. Contam. Toxicol.* 44: 661-668.

Kool HJ, Van Kranen HJ, Bakker G, De Jonge PH. 1979. Microbiologische test systemen voor bewaking waterkwaliteit. *H<sub>2</sub>O* 20: 455-459.

- McCahon CP, Poulton MJ, Thomas PC, Xu Q, Pascoe D, Turner C. 1991. Lethal and sublethal toxicity of field simulated farm waste episodes to several freshwater invertebrate species. *Water Res.* 25: 661-671.
- McGuinness SM, Barisas BG. 1991. Acute toxicity measurements on aquatic pollutants using microcalorimetry on tissue-cultured cells. *Environ. Sci. Technol.* 25: 1092-1098.
- Marshall JS. 1979. Cadmium toxicity to laboratory and field populations of *Daphnia galeata mendotae*. *Bull. environ. Contam. Toxic.* 21: 453-457.
- Martin TR, Holdich DM. 1986. The acute lethal toxicity of heavy metals to peracarid crustaceans (with particular reference to fresh-water asellids and gammarids). *Water Res.* 20: 1137-1147.
- Merian E. 1994. Metals aquatic contamination workshop. *Environ. Sci. Technol.* 28: 144-146.
- Merritt RW, Cummins KM. 1984. An introduction to the aquatic insects of North America. Dubuque, Kendall, Hunt Publishing Co.
- Munkittrick KR, Power EA, Sergy GA. 1991. The relative sensitivity of Microtox, daphnid, rainbow trout and fathead minnow acute lethality tests. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 6: 35-62.
- Nacci DE, Jackim E, Walsh R. 1986. Comparative evaluation of three rapid marine toxicity tests: Sea urchin embryo test, sea urchin sperm cell toxicity test and Microtox. *Environ. Toxicol. Chem.* 5: 521-525.
- Nummelin M, Lodenius M, Tulisalo E. 1998. Water striders (Heteroptera, Gerridae) as bioindicators of heavy metals. *Entom. fenn.* 8: 185-191.
- Price DRH. 1978. Fish as indicators of water quality. *Water Pollut. Control* 50: 285-293.
- Ruthven JA, Cairns J Jr. 1973. Response of fresh-water protozoan artificial communities to metals. *J. Protozool.* 20: 127-135.
- Segner HD, Lenz D, Hanke W, Schuurman G. 1994. Cytotoxicity of metals toward rainbow trout RI cell line. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 9: 273-280.
- Slabert JL, Morgan WSG. 1982. A bioassay technique using *Tetralymena pyriformis* for the rapid assessment of toxicants in water. *Water Res.* 16: 517-523.
- Snell TW, Moffat BD, Janssen C, Persoone G. 1991. Acute toxicity tests using rotifers: III. Effects of temperature, strain and exposure time on the sensitivity of *Brachionus plicatilis*. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 6: 63-75.
- Spies M, Reiss F. 1996. Catalog and bibliography of Neotropical and Mexican Chironomidae. *Spixiana, Suppl.* 22: 61-119.
- Streble H, Krauter D. 1987. Atlas de los microorganismos de agua dulce. Barcelona, Ediciones Omega S.A.
- Sussmuth R, Lenz P, Muller D. 1992. Effect of test conditions and interfering factors on sensitivity of bacterial tests based on inhibition of growth and motility. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 7: 257-274.
- Valent GU, Sato MIZ, Cristina M, Coelho LS, Coimbra CA, Sánchez P. 1993. Monitoring São Paulo Rivers in Brazil for mutagenic activity using the Ames test. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 8:371-381.
- Woog PTS, Burnison G, Chau YK. 1979. Cadmium toxicity to freshwater algae. *Bull. environ. Contam. Toxic.* 23: 487-490.
- Zar JH. 1984. Biostatistical analysis. New York, Prentice-Hall Inc.