

Tolerancia de la larva del zancudo *Culex quinquefasciatus* a metales contaminantes del medio acuático

José A. Iannacone Oliver^{1,2}

Lorena Alvarino Flores²

RESUMEN

IANNACONE J A, ALVARINO L. 1996. Tolerancia de la larva del zancudo *Culex quinquefasciatus* a metales contaminantes del medio acuático. Rev. per. Ent. 39.— Se efectuaron bioensayos de toxicidad aguda estática usando ocho metales pesados a 24 horas de exposición sobre larvas de primer estadio de *Culex quinquefasciatus* (Dip.: Culicidae). Se evaluó como respuesta biológica el porcentaje de mortalidad para cada concentración del metal tóxico. Las curvas dosis-respuestas obtenidas con los iones metálicos Cd²⁺, Cu²⁺, Cr⁶⁺, Ni²⁺, Zn²⁺, As⁵⁺, Pb²⁺ y Mn²⁺ muestran un valor de concentración letal 50 (LC₅₀) de 0,51; 0,87; 9,04; 22,93; 29,2; 34,44; 47,71 y 296,7 mg/l respectivamente. Los valores de LC₅₀ mostraron que *C. quinquefasciatus* es más sensible al Cd²⁺, Cu²⁺ y Cr⁶⁺, y más tolerante al Mn²⁺. Para cada tóxico estudiado la mortalidad se incrementa con la concentración. La toxicidad relativa de los metales contaminantes es de Cd²⁺ > Cu²⁺ > Cr⁶⁺ > Ni²⁺ > Zn²⁺ > As⁵⁺ > Pb²⁺ > Mn²⁺. La toxicidad relativa LC₅₀ del Cd²⁺ es 581 veces más baja que el Mn²⁺.

La larva resultó ser tolerante a la mayoría de metales pesados, excepto para el Cd²⁺, Cu²⁺ y Cr⁶⁺ en comparación con otros invertebrados del ambiente acuático, como las pulgas de agua *Daphnia obtusa* y *D. magna*, el caracol de agua dulce *Physa venustula*, el rotífero *Brachionus calyciflorus* y el microcrustáceo *Artemia salina*.

Palabras clave: *Culex quinquefasciatus*, zancudo, culicidos, metales pesados, Perú.

SUMMARY

IANNACONE J A, ALVARINO L. 1996. Tolerance of the mosquito larvae *Culex quinquefasciatus* (Dip: Culicidae) to contaminants heavy metals. Rev. per. Ent. 39.— Acute toxicity static bioassays with eight heavy metals at 24 h period to first instar larvae of *Culex quinquefasciatus* were performed. We evaluated the biological response like mortality for every concentration of toxic metal. The curves dose-response with the metallic ions Cd²⁺, Cu²⁺, Cr⁶⁺, Ni²⁺, Zn²⁺, As⁵⁺, Pb²⁺ and Mn²⁺ showed a Lethal Concentration 50 (LC₅₀) of 0,51; 0,87; 9,04; 22,93; 29,2; 34,44; 47,71 and 296,7 mg/l respectively. The values of LC50s indicated that *C. quinquefasciatus* is more sensible to Cd²⁺, Cu²⁺ and Cr⁶⁺, and less to Mn²⁺. For every toxic studied the mortality increase with the concentration. The relative toxicity of the contaminants metals is Cd²⁺ > Cu²⁺ > Cr⁶⁺ > Ni²⁺ > Zn²⁺ > As⁵⁺ > Pb²⁺ > Mn²⁺. The relative toxicity of LC₅₀ for Cd²⁺ is 581 lower than Mn²⁺.

The larvae is tolerant for all heavy metals, less for Cd²⁺, Cu²⁺ and Cr⁶⁺ compared with other invertebrates in aquatic systems, like the water fleas *Daphnia obtusa* and *D. magna*, the aquatic snail *Physa venustula*, the rotifer *Brachionus calyciflorus* and the shrimp *Artemia salina*.

Key words: *Culex quinquefasciatus*, aquatic insect, mosquito, heavy metal, Perú.

Introducción

La contaminación de ríos y lagos por metales pesados contaminantes potencialmente tóxicos, como resultado de las actividades humanas, es un

problema reconocido a nivel mundial (MERIAN 1994).

El río Rímac y su área de influencia acuática, lugar de refugio y cría de *Culex quinquefasciatus* (Dip.: Culicidae) cruza regiones altamente pobladas e industrializadas, tal como la ciudad de Lima. Este río recibe, permanentemente, diversas clases de descargas industriales, domésticas y agropecuarias, que contienen varios productos entre ellos iones de metales pesados.

Culex quinquefasciatus, perteneciente al complejo *C. pipiens*, es común y abundante en los ambientes acuáticos de Lima. Este zancudo causa picaduras dolorosas en los pobladores de la ciudad de Lima y constituye un problema de entomología médica (*).

1. Departamento de Biología, Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

2. Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Universidad Nacional Federico Villarreal.

* IANNACONE O J, ALVARINO L H, LAZCANO C. 1994. Uso de un modelo biomatemático para el diagnóstico de la contaminación por metales pesados en el río Rímac. Lima-Perú. Libro de Resúmenes del II Seminario de Modelos Matemáticos aplicados a la medicina y Biología. 27-29 de Abril. 50 pp.

Los objetivos de este trabajo son:

1) Determinar la LC₅₀ en ensayos estáticos de toxicidad aguda a 24 horas de exposición con ocho metales pesados (As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn); y

2) Comparar la toxicidad de los tres metales más tóxicos para *C. quinquefasciatus* con otros organismos acuáticos.

Materiales y métodos

Culex quinquefasciatus

La especie fue identificada a nivel larval, pupal y de adulto (MERRITT y CUMMINS 1984). Con la ayuda de pinzas entomológicas y de una pipeta acuática se colectaron las masas de huevos de *Culex* de la superficie de la laguna de estabilización de la planta de Aguas Residuales de Carapongo, del Servicio de Agua potable y Alcantarillado de Lima (SEDAPAL) en el valle del Rímac. Se usaron vasos de 250 ml con agua de dilución para la larva de zancudo, donde se colocaron 4 masas, esperándose su eclosión.

Cría de *C. quinquefasciatus*

Las masas de huevos se colocaron en un medio compuesto por 5,0 g de alimento para peces más 1,0 g de pasto seco para ser homogenizado en un litro de agua destilada. Se agregó 10 ml de la solución madre en un litro de agua destilada, donde fueron colocadas las masas de huevos hasta su eclosión. Larvas recién eclosionadas fueron alimentadas tres veces por semana y se mantuvieron a temperatura entre 19°C y 21°C y oxígeno disuelto de 5 a 7 mg/L. Sobre el envase de cría se colocó una rejilla para retener los adultos de los zancudos (APHA 1989, KNIGHT y WALLER 1992).

Pruebas de susceptibilidad de *C. quinquefasciatus* a los metales pesados

Cada experimento se inició con larvas de primer estadio del zancudo, dentro de las 24 horas de haber eclosionado. Los ejemplares se escogieron al azar de los frascos de eclosión de huevos y recuperación de larvas de zancudo. Diez larvas de primer estadio se distribuyeron al azar para cada concentración en cada una de las cuatro réplicas. Las larvas no se alimentaron durante la duración del ensayo. Al realizar las pruebas de toxicidad las larvas se consideraron muertas si no eran capaces de moverse coordinadamente al ser pinchadas ligeramente con un alfiler.

Sales de metales a analizar

Las soluciones stock (1.000 mg/L) de los iones de metales se prepararon disolviendo en agua destilada, en fioles de un litro, las siguientes sales metálicas:

- Sulfato de cobre pentahidratado [CuSO₄·5H₂O]
- Nitrato de plomo [Pb(NO₃)₂]
- Arseniato de sodio [NaHAsO₄·7H₂O]
- Cloruro de cadmio [CdCl₂]
- Sulfato de manganeso [MnSO₄]
- Sulfato de zinc [ZnSO₄]
- Cloruro de níquel [NiCl₂]
- Bicromato de potasio [K₂Cr₂O₇]

Las fioles previamente fueron lavadas con ácido nítrico al 10% y luego enjuagadas en agua destilada y mantenidas a 4°C. Todas las concentraciones se registraron en concentraciones nominales de iones de metales.

Físicoquímica del agua

El oxígeno disuelto y el pH se midieron en dos réplicas al inicio y al final del ensayo. La temperatura se mantuvo en una incubadora, regulada a 20°C.

El pH y la conductividad se midió mediante un potenciómetro Hanna 8417. El pH fue ajustado al inicio del ensayo a 7,0 con una solución NaOH 0,1M o con H₂SO₄ 0,1M. Los datos de oxígeno disuelto se tomaron mediante el oxímetro Modelo Yellow Sprint.

Diseño experimental y análisis de datos

Se condujeron ensayos de toxicidad aguda estáticos a las 24 horas de exposición con ocho metales pesados; As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn.

Las pruebas para los diferentes metales pesados se realizaron en cuatro réplicas 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 (ANOVA de una vía), previa transformación de los datos a raíz cuadrada del arcoseno, con el fin de ajustar los datos a la distribución normal. En el caso de existir diferencias significativas entre las réplicas se realizó una prueba de significación DVS (diferencia verdaderamente significativa) de TUKEY y luego mediante la técnica sugerida por DUNCAN se graficaron las comparaciones (DANIEL 1993).

La LC₅₀ y sus límites de confianza al 95% se calcularon usando un programa computarizado

CUADRO 1.- Comparación de la toxicidad del cadmio, cobre y cromo sobre varios organismos, en miligramos por litro.

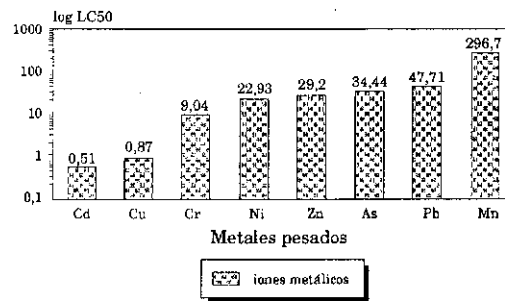
Organismos	Cadmio	Cobre	Cromo	Tiempo de exposición	Referencia
<i>Vibrio fischeri</i>	19-220	0,076-3,8	13	15 minutos	BITTON <i>et al.</i> 1994
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	0,282	-	1,05	96 horas	MAGDALENO <i>et al.</i> 1995
<i>Selenastrum capricornutum</i>	0,04	0,069	0,084	24 horas	BURBANK Y SNELL 1994
<i>Physa venustula</i>	0,85	10	17,85	24 horas	IANNACONE <i>et al.</i> 1994 sin. publ.
<i>Artemia salina</i>	78,1	4,23	30,9	24 horas	CRISINEL <i>et al.</i> 1994
<i>Streptocephalus rubricaudatus</i>	0,39	0,08	0,97	24 horas	CRISINEL <i>et al.</i> 1994
<i>Daphnia magna</i>	0,041	0,064	0,10	48 horas	KHANGAROT Y ROY 1987 MILLER <i>et al.</i> 1985
<i>Daphnia obtusa</i>	0,70	20,06	0,45	24 horas	BULUS Y RONCO 1995
<i>Brachionus calyciflorus</i>	0,12	0,026	5,20	48 horas	SNELL Y PERSOONE 1989
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0,15	0,25	11	96 horas	MUNKITTRICK <i>et al.</i> 1991
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0,51	0,87	9,04	24 horas	Presente estudio

de la EPA. Estos valores fueron derivados del análisis de regresión del logaritmo de la concentración del metal (en mg/L)/ mortalidad probit (porcentaje transformado). Los resultados de las réplicas fueron sumados.

El modelo de regresión fue verificado usando el estadístico Chi-cuadrado (MARTIN Y HOLDICH 1986). Se debe enfatizar que los valores de LC₅₀ calculados son a partir de concentraciones nominales de los iones de metales (BULICH *et al.* 1982)

Resultados y discusión

La figura 1 muestra de manera comparativa los valores de LC₅₀ para ocho metales pesados sobre *C. quinquefasciatus* a 24 horas de exposición. El Cd⁺² resultó ser el más tóxico y el Mn⁺² el menos tóxico. El orden de toxicidad relativa decreciente es de Mn>Pb>As>Zn>Ni>Cr>Cu>Cd.



Proyecto Concytec-1995

FIGURA 1.- Comparación de los valores de LC₅₀ de ocho metales pesados sobre *Culex quinquefasciatus*.

Las figuras 2 a 9 muestran la relación entre la concentración de cada ión del metal (mg/L) con la mortalidad de *Culex*, respectivamente, para cada uno de los ocho metales a 24 horas de exposición.

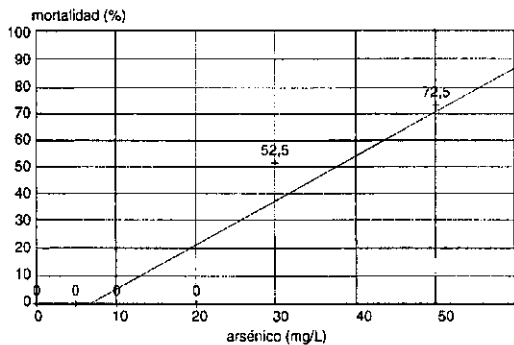


FIGURA 2.- Toxicidad del arsénico sobre *Culex quinquefasciatus* a 24 horas de exposición.

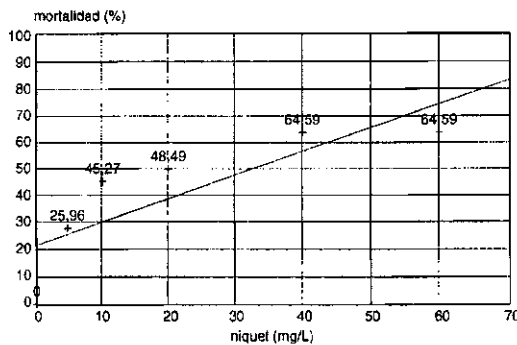


FIGURA 6.- Toxicidad del níquel sobre *Culex quinquefasciatus* a 24 horas de exposición.

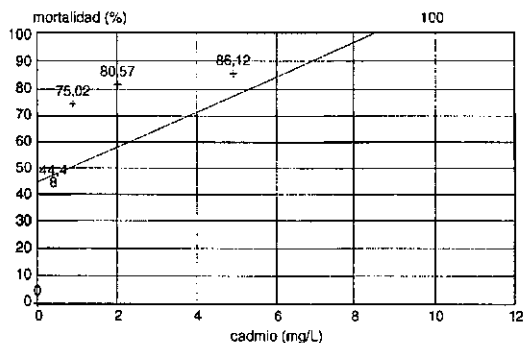


FIGURA 3.- Toxicidad del cadmio sobre *Culex quinquefasciatus* a 24 horas de exposición.

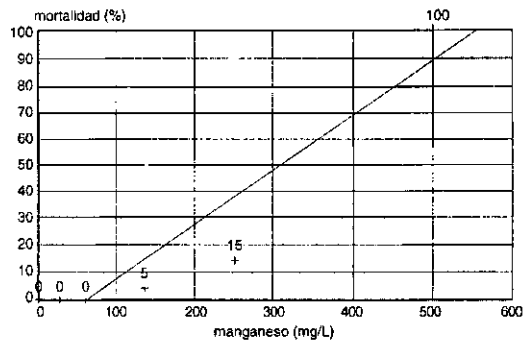


FIGURA 7.- Toxicidad del manganeso sobre *Culex quinquefasciatus* a 24 horas de exposición.

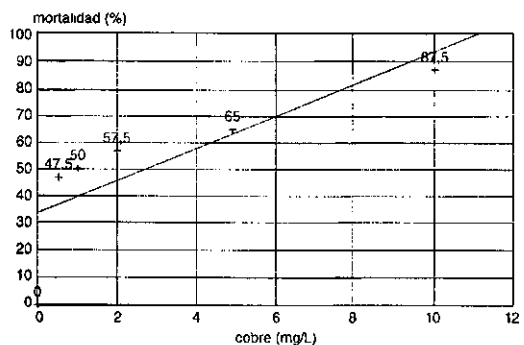


FIGURA 4.- Toxicidad del cobre sobre *Culex quinquefasciatus* a 24 horas de exposición.

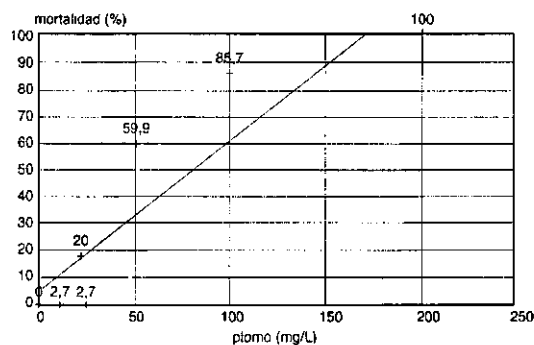


FIGURA 8.- Toxicidad del plomo sobre *Culex quinquefasciatus* a 24 horas de exposición.

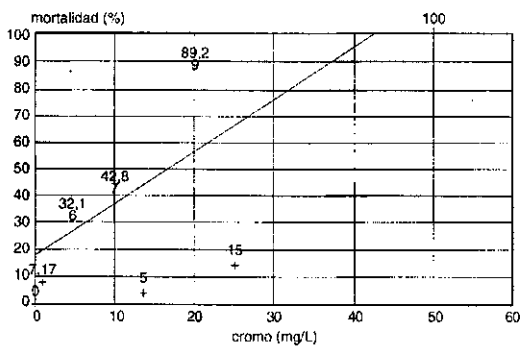


FIGURA 5.- Toxicidad del cromo sobre *Culex quinquefasciatus* a 24 horas de exposición.

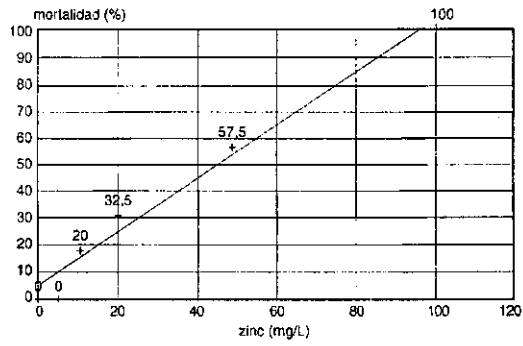


FIGURA 9.- Toxicidad del zinc sobre *Culex quinquefasciatus* a 24 horas de exposición.

Para todos los casos el análisis estadístico muestra que no existen diferencias significativas entre las cuatro réplicas para *Culex* a 24 horas de exposición ($P < 0,05$).

Los tres metales más tóxicos resultaron ser el Cd^{+2} , el Cu^{+2} y el Cr^{+6} , por lo que hizo una comparación sólo con estos tres iones con lo encontrado con otros organismos acuáticos (cuadro 1). Para el caso del Cd^{+2} y Cr^{+6} , *Culex* resultó ser más tolerante que el alga verde *Ankistrodesmus falcatus*, el rotífero *Brachionus calyciflorus*, las pulgas de agua *Daphnia magna* y *D. obtusa*, el microcrustáceo *Streptocephalus rubricaudatus*, y con el pez alvino *Oncorhynchus mykiss*. Resultando ser más sensible para ambos metales que la bacteria acuática *Vibrio fischeri*, el caracol de agua dulce *Physa venustula* y el microcrustáceo *Artemia salina*.

Para el caso del cobre, la especie *Culex*, resultó ser más sensible que la mayoría de organismos comparados excepto que la bacteria acuática *Vibrio fischeri*, los microcrustáceos *A. salina* y *D. obtusa*. Además resultó ser menos sensible que el protozoario ciliado *Tetrahymena pyriformis* (0,13 mg/L) y la larva de insecto *Chironomus decorus* (0,74 mg/L a 48 horas). Y más sensible que el anfípodo *Crangonyx rubens* (2,44 mg/L a 48 horas) y el isópodo *Asellus aquaticus* (9,21 mg/L a 96 horas) (MARTIN y HOLDICH 1986, PRITCHARD 1993, ROBERT y BERK 1993, WONG y DIXON 1995).

La toxicidad de los metales pesados en ambientes naturales contaminados es influenciado por el pH, materia orgánica, temperatura y presión hidrostática. La quelación de metales por componentes orgánicos e inorgánicos produce una disminución en la biodisponibilidad para los organismos utilizados en los bioensayos y entonces una pérdida de sensibilidad (PRITCHARD 1993).

En la literatura existe numerosa información de los efectos crónicos de los químicos tóxicos en la fisiología, genética y respuestas morfológicas de invertebrados (WONG y DIXON 1995). Las respuestas fisiológicas más comúnmente medidas son la supervivencia, crecimiento, longevidad, respiración, producción de biomasa, comportamiento reproductivo y metabolismo. Las respuestas genéticas y morfológicas fueron observadas en las deformidades de las piezas bucales, cápsula cefálica y pared del cuerpo de Chironomidae (HAMILTON y SAETHER 1971). La toxicidad de mezclas de tóxicos químicos en los invertebrados acuáticos es escasa en la literatura (DOUGLAS *et al.* 1993).

Literatura

APHA (American Public Health Association). 1989. Standard methods for examination of water and wastewater. 17th. ed. American Health Association. Washington, D. C.

Bulich A A, Greene M W, Isenberg D L. 1982. A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. *Process. Biochem.* 17: 45-47.

Bitton G, Jung K, Koopman B. 1994. Evaluation of a microplate assay specific for the heavy metal toxicity. 1994. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27: 25-28.

Bulus C D, Ronco A E. 1995. Acute toxicity bioassay using *Daphnia obtusa* as test organism. Book of Abstracts. 7th International Symposium on Toxicity Assessment, Santiago, Chile. 76 pp.

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

Crisinel A, Delaunay L, Rossel D, Tarradellas J, Meyer H, Saiah H, Vogel P, Delisle C, Blaise C. 1994. Cyst-based ecotoxicological tests using anostracans: comparison of two species of *Streptocephalus*. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 6: 35-62.

Daniel W W. 1993. Bioestadística. Base para el análisis de las Ciencias de la Salud. Editorial Limusa, S.A. de C.V. grupo Noriega Editores, 667 pp.

Douglas W S, McIntosh A, Clausen J C. 1993. Toxicity of sediments containing atrazine and carbofuran to larvae of midge *Chironomus tentans*. *Environ. Toxicol. & Chem.* 12: 847-853.

Haas R, Pal R. 1984. Mosquito larvivorous fishes. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 30: 17-25.

Hamilton A L, Saether O A. 1971. The occurrence of the characteristic deformities in the chironomid larvae of several canadian lakes. *Can. Ent.* 103: 363-368.

Khangarot B S, Ray P K. 1987. Correlation between heavy metal acute toxicity values in *Daphnia magna* and fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 38: 722-726.

Knight J T, Waller W T. 1992. Influence of the addition of Cerophyl on the *Selenastrum capricornutum* diet of the cladoceran *Ceriodaphnia dubia*. *Environ. Toxicol. & Chem.* 11: 521-534.

Kosalwat P, knight A W. 1987. Acute toxicity of aqueous and substrate-bound copper to the midge *Chironomus decorus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 16: 283-290.

Lounibos P S, Nishimura N, Dewald L B. 1992. Predation of *Mansonia* (Diptera: Culicidae) by Native Mosquitofish in Southern Florida. *J. Med. Entomol.* 29: 236-241.

Magdaleno A, Gomez C E, Velez C G, Accorinti. 1995. Preliminary Toxicity Tests using the green algae *Ankistrodesmus falcatus*. Book of Abstracts. 7th International Symposium on Toxicity Assessment, Santiago, Chile. 76 pp.

Martin T R, Holdich D M. 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. Metal aquatic contamination workshop. *Environ. Sci. Tech.* 28:144-146.

Merritt R W, Cummins K W. 1984. An Introduction to the Aquatic Insects of North America. Second Edition. 722 pp.

Miller W E, Peterson S A, Greene J C, Callagher C A. 1985. Comparative toxicology of laboratory organisms for assessing hazardous waste sites. *J. Environ. Qual.* 14: 569-579.

- Munkittrick K R, Power E A, Sergy G A. 1991. The relative sensitivity of Microtox, Daphnids, Rainbow trout, and fathead minnow acute lethality tests. *Environ. Toxicol. Water Qual* 6: 35-62.
- Pritchard J B. 1993. Aquatic Toxicology. Past, Present and Prospects. *Environ. Health Perspect.* 100: 249-257.
- Roberts R D, Berk S G. 1993. Effect of copper, herbicides, and a mixed effluent on chemoattraction of *Tetrahymena pyriformis*. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 8: 73-85.
- Snell T W, Persoone G. 1989. Acute toxicity bioassays using rotifers. II-A freshwater test with *Brachionus rubens*. *Aquatic Toxicol.* 14: 81-92.
- Wong P T S, Dixon D G. 1995. Bioassessment of water Quality. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 10: 9-17.