

## Uso de *daphnia pulex* como bioindicador de contaminación ambiental en aguas, usando dicromato de potasio como contaminante de referencia, Tacna 2015

**Daphnia pulex use as environmental pollution bioindicator water using potassium dichromate as a contaminant reference, Tacna 2015**

**Juan José Vargas Mamani**<sup>1</sup>

1. Químico Farmacéutico egresado de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann

### RESUMEN

En el trabajo de investigación, se determinó que la *Daphnia pulex*, responde con linealidad y correlación respecto al tóxico de referencia, Dicromato de potasio, por lo que se considera válida para monitoreo de otras sustancias tóxicas. La cepa es una cepa nativa que se obtuvo de los cauces del río Uchusuma e identificada en la Escuela de Biología de la Universidad Nacional San Agustín. También se halló la CL50 del dicromato de potasio que es de 1.24 ppm, que representa el límite de detección del tóxico de referencia. La calibración se llevó a cabo con el software spss22, aplicando el ANOVA, método probits, índice de correlación y prueba de bondad de ajuste. La cepa fue criada en el Bioterio de la Escuela de Biología de la Universidad Nacional Jorge Basadre.

**PALABRAS CLAVES:** *Daphnia pulex*, toxicidad, ecotoxicidad, dicromato de potasio

### ABSTRACT

In the research, it was determined that the *Daphnia pulex*, responds with linearity and correlation with toxic standard, potassium dichromate, which is considered valid for other toxic substances monitoring. The strain is a native strain was obtained from the riverbeds Uchusuma and identified in the School of Biology at the Universidad Nacional San Agustín. LC50 also potassium dichromate is 1.24 ppm, representing the detection limit of the toxic standard was found. Calibration is carried out with the software spss22, with ANOVA, probits method, correlation and index goodness of fit test. The strain was bred in the vivarium of the School of Biology of the National University Jorge Basadre.

**KEYWORDS:** *Daphnia pulex*, toxicity, potassium dichromate, environmental chemistry.

## INTRODUCCIÓN

Los cladóceros son crustáceos del plancton que ecológicamente se asemejan más a los rotíferos, por su tamaño pequeño, rápido desarrollo y ciclos reproductivos. Los cladóceros (cladóceros) constituyen un suborden del orden de los filópodos (Phyllopoda, brachiopoda), derivados por neotenia o, para hablar con más propiedad, por progénesis, de conostráceos (Conchostraca) que hubieran detenido su desarrollo en una etapa, en un principio transitoria, con solo 6, 5 y finalmente 4 pares de patas, quedando con un número relativamente pequeño de células, aunque no tan constante como en los rotíferos. El desarrollo es directo, a partir de huevos relativamente muy grandes, excepto en *Leptodora*, un cladóceros excepcional por su tamaño (18 mm), que nace en forma de metanauplio. El número de mudas que experimentan hasta que pueden reproducirse no supera a seis. (1)

Dentro del grupo cladóceros, las especies del género *Daphnia* son las más utilizadas como organismos de prueba o de referencia en pruebas de toxicidad. La amplia distribución geográfica, el importante papel que cumplen al interior de la comunidad zooplanctónica, la facilidad de cultivo en el laboratorio, la reproducción partenogenética (lo cual asegura uniformidad de respuesta), y el corto ciclo de vida con la reproducción de un alto número de crías, han hecho de este grupo un ideal para la evaluación de toxicidad, a nivel universal.

El género *Daphnia* se ubica dentro del orden cladóceros de la clase crustácea, y especies como *D. magna*, *D. pulex* y *D. similis*, son utilizadas extensivamente en pruebas de toxicidad, por lo cual existe una extensa información sobre las técnicas de cultivo, los requisitos de temperatura, luz y nutrientes, así como su respuesta a muchos compuestos tóxicos. (2)

La ecotoxicología, rama de la ciencia definida por Butler en 1978, estudia y analiza los efectos de agentes químicos y físicos sobre organismos vivos, con particular atención a poblaciones y comunidades de ecosistemas definidos. La ecotoxicología aplicada tiene como objetivo el desarrollo de protocolos de ensayo para ser utilizados como herramientas de predicción tempranas que permitan definir umbrales permisibles, con niveles de incertidumbre aceptables, y sirvan de guía a las entidades reguladoras para la toma de decisiones. (3)

Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de

agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos.

Los efectos pueden manifestarse a diferentes niveles, desde estructuras subcelulares o sistemas de enzimas, hasta organismos completos, poblaciones o comunidades. Por tanto, la toxicidad será la capacidad de una sustancia para ejercer un efecto nocivo sobre un organismo o la biocenosis, y dependerá tanto de las propiedades químicas del compuesto como de su concentración, según sea la duración y frecuencia de la exposición al tóxico, y su relación con el ciclo de vida del organismo; las pruebas podrán ser de tipo agudo o crónico. (4)

El objetivo del trabajo es probar que la *Daphnia pulex* nativa puede usarse como bioindicador de contaminación ambiental respecto del agua.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo y diseño de investigación: El tipo y diseño de investigación fue experimental ya que se emplearon las variables independientes (concentración de dicromato de potasio) para analizar los efectos de esta en las variables dependientes (muerte de daphnias) y así usar estos datos para probar la linealidad y correlación entre las dos. Se empleó el diseño experimental completamente aleatorizado, en bloques de 10 tratamientos con 3 repeticiones. (5)

La crianza se realizó en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, en un acuario con aireación constante, y alimentación de jugo de alfalfa y espirulina micronizada en polvo, por el lapso de un mes la crianza produjo suficientes especímenes para las pruebas. (6)

Se usó como toxico de referencia el dicromato de potasio en solución de 0.20808 mg/ml para las pruebas que se realizaron en recipientes de vidrio de 100 ml de capacidad. Las pruebas se realizaron en el laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias.

Se usó el programa SPSS 22, para realizar las pruebas, las cuales consistieron en, coeficientes de correlación de spearman, anova de regresión lineal, método probits y prueba de bondad de ajuste. (7)

Métodos de calibración (8)

Se usara el ANOVA para probar la existencia de la pendiente.

Se calcula el coeficiente de correlación para probar la linealidad de la regresión.

Se usa el probits para calcular el CL50.

Prueba de bondad de ajuste de Pearson.

RESULTADOS

En la tabla 1 puede observarse los valores de concentración de Dicromato de potasio en un recipiente de 70 ml, que constituyen 10 ensayos con tres repeticiones cada uno, a las 48 hrs. El dicromato de potasio se usó como tóxico de referencia.

**TABLA N° 1**  
Datos de muertes de las diferentes muestras de Daphnias vs concentración de K2Cr2O7 en solución.

	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ml de sol/ frasco 70 ml	concentración solución de 0.20808 mg/ml	MUERTOS 48 hrs vivos inicio	MUERTOS 48 hrs		
				mta 1	mta 2	mta 3
A0	0	*0 mg/L	10	0	0	0
A1	0.1	0.297257 mg/L	10	0	0	0
A2	0.2	0.59451428 mg/L	10	0	3	3
A3	0.3	0.89177142 mg/L	10	0	5	3
A4	0.4	1.1890285 mg/L	10	2	6	4
A5	0.5	1.48628571 mg/L	10	4	7	8
A6	0.6	1.78354285 mg/L	10	4	7	8
A7	0.7	2.0808 mg/L	10	8	8	9
A8	0.8	2.3780571 mg/L	10	8	10	10
A9	0.9	2.6753142 mg/L	10	9	10	10
A10	1	2.972571 mg/L	10	10	10	10

En la tabla 2 se indican los límites de confianza del método probits, en el que la CL50 e de 1,703 ppm para el primer ensayo. El coeficiente de correlación de Spearman fue positivo con valores de 0,972 y 1, lo que nos indica una relación lineal entre las muertes y la concentración además de ser lineal. El ANOVA de regresión lineal nos confirma la relación lineal. La prueba de bondad de ajuste nos indica que en el probit existe una relación entre las proporciones de muerte y concentración.

**TABLA N° 2**  
Límites de confianza del tratamiento CL50 por el método probits para la primera muestra.

Probabilidad (PROBIT)	95% de límites de confianza para a_concentr		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior
,010	,800	,488	1,016
,050	,998	,687	1,203
,100	1,123	,823	1,319
,200	1,295	1,021	1,481
,300	1,436	1,186	1,617
,400	1,568	1,340	1,754
,500	1,703	1,492	1,905
,600	1,849	1,645	2,090
,700	2,019	1,806	2,332
,800	2,238	1,992	2,684
,900	2,581	2,252	3,303
,990	3,624	2,940	5,541

En la tabla 3 se indican los límites de confianza del método probits, en el que la CL50 e de 0,980 ppm para el primer ensayo. El coeficiente de correlación de Spearman fue positivo con valores de 0,986 y 1, lo que nos indica una relación lineal entre las muertes y la concentración además de ser lineal. El ANOVA de regresión lineal nos confirma la relación lineal. La prueba de bondad de ajuste nos indica que en el probit existe una relación entre las proporciones de muerte y concentración.

**TABLA N° 3**  
Límites de confianza del tratamiento CL50 por el método probits para la segunda muestra.

Probabilidad (PROBIT)	95% de límites de confianza para conc		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior
,010	,235	,089	,379
,050	,357	,169	,520
,100	,447	,237	,617
,200	,585	,356	,763
,300	,711	,475	,895
,400	,839	,603	1,032
,500	,980	,747	1,189
,550	1,059	,827	1,282
,600	1,145	,913	1,390
,700	1,353	1,110	1,675
,800	1,643	1,356	2,142
,900	2,153	1,729	3,120
,990	4,088	2,888	8,126

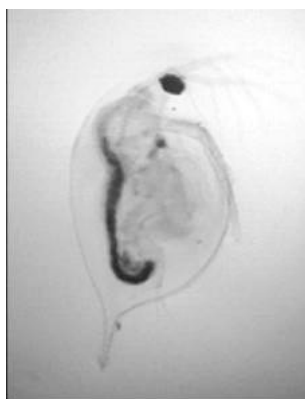
En la tabla 4 se indican los límites de confianza del método probits, en el que la CL50 es de 1,039 ppm para el primer ensayo. El coeficiente de correlación de Spearman fue positivo con valores de 0,984 y 1, lo que nos indica una relación lineal entre las muertes y la concentración además de ser lineal. El ANOVA de regresión lineal nos confirma la relación lineal. La prueba de bondad de ajuste nos indica que en el probit existe una relación entre las proporciones de muerte y concentración.

**TABLA N° 4**  
Límites de confianza del tratamiento CL50 por el método probits para la tercera muestra.

Probabilidad (PROBIT)	95% de límites de confianza para conc		
	Estimación	Límite inferior	Límite superior
,010	,317	,147	,467
,050	,449	,248	,609
,100	,540	,327	,705
,200	,676	,456	,844
,300	,795	,575	,966
,400	,913	,698	1,090
,500	1,039	,830	1,231
,600	1,183	,975	1,405
,700	1,358	1,142	1,643
,800	1,597	1,347	2,013
,900	1,999	1,651	2,736
,990	3,408	2,543	5,972

En la figura 1 se ve una micrografía de las Daphnias (*Daphnia pulex*) usadas en la investigación, este cladóceros fue aislado de las aguas del Río Uchusuma, entre los meses de junio y agosto, con una malla para plancton.

La concentración letal media es de 1.24 ppm de dicromato de potasio, la cual fue obtenida del promedio de las tres repeticiones.



**Figura 1:** *Daphnia pulex*

## DISCUSIÓN

Todas las pruebas que se realizaron, la correlación de Spearman, anova de la regresión lineal, método probits y prueba bondad de ajuste, demostraron la linealidad y correlación entre muertes y concentración de tóxico de manera creciente, o sea a mayor concentración mayores muertes.

La concentración letal media fue de 1.24 ppm lo cual demuestra cuán sensible es la *Daphnia pulex* de Tacna a los contaminantes inorgánicos. Se recomienda hacer futuras investigaciones con otros tóxicos de referencia como por ejemplo sulfato de cobre, sales de arsénico o compuestos orgánicos como el fenol. Comparando con los resultados de Silva (9) la cepa de tacna es 10 veces más resistente al dicromato de potasio y comparando a la sensibilidad de la *Hydra* en el trabajo de Dueñas (10) esta es más útil en acumulación de tóxicos.

## CONCLUSIONES

La concentración letal media es de 1.24 ppm de dicromato de potasio.

Las pruebas estadísticas demostraron linealidad y correlación entre los parámetros de porcentaje de muertes y concentración de dicromato de potasio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Margalef Ramon. Limnología. Barcelona. Ediciones omega. 1983.
2. Castillo Gabriela. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. México. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. 2004.
3. Patricia Ramirez Romero y Ania Mendoza Cantu. ENSAYOS TOXICOLÓGICOS PARA LA EVALUACIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS EN AGUA Y SUELO LA EXPERIENCIA EN MÉXICO México. Instituto nacional de ecología. 2008.
4. Casarett & Doull. Manual de Toxicología. 5° edición. México. Editorial Mc Graw Hill. 1999.
5. Pino Gotuzo Raul. Metodología de la investigación. Perú. editorial san marcos. 2010.
6. Rahman Atta – ur. Bioassay Techniques for Drugs Development. USA. Editorial Harword academic publishers. 2001.
7. Quezada Nel Lucio. Estadística con SPSS 22. Perú. Editorial Macro. 2014.
8. Huarachi Ronald. Hydra vulgaris pallas, 1766 (Hidrozoa: hydridae) como bioindicador de la calidad de aguas del río chili, Arequipa. Perú. Revista The Biologist vol 10 N° 2. 2012.
9. Silva Jeannette, Torrejon Guillermo. Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con Daphnia pulex (Crustacea: Cladocera) usando un tóxico de referencia. Perú. Rev. Gayana 67(1). 2003.
10. Dueñas Alex, Huarachi Ronald. Bioacumulación de arsénico en Chlorella vulgaris (Chlorophyta: Chlorellaceae) en efluente de parque industrial río seco (PIRS) y toxicidad aguda sobre Paphnia magna (Crustacea: Daphniidae), arequipa. Perú. Rev The Biologist Vol 12 N° 1. 2014.

### Correspondencia

Juan José Vargas Mamani  
ogiva64@gmail.com

**Fecha de recepción:** 20 de junio de 2016

**Fecha de aceptación:** 20 de julio de 2016