

Valoración de la toxicidad aguda de biocidas utilizados en ambientes de la vida privada y la salud pública sobre *Artemia franciscana*

M. Carmen Bartolomé-Camacho^{1*} y Sebastián Sánchez-Fortún Rodríguez²

¹ Escuela de Químico-Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México

² Departamento de Toxicología y Farmacología, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, Madrid, España.

Recibido 28 Noviembre 2006, revisado 9 Marzo 2007, aceptado 10 Abril 2007

Sharp toxicity assessment of biocides on Artemia franciscana used in domestic and public health affairs.

Abstract

The acute toxicity of commercial formulates used in cleaning and disinfection of different materials, has been studied on larvae (*Artemia Franciscana*) 24 hours old. According to the proposed methodology, larvae populations were exposed to selected concentrations of those formulates at 24, hours time expositions. The CL₅₀ values obtained were (ranks, mg/l): Tolcide 0,26 mg/l, Oxone 11,58 mg/l, 2-Bromo-2 nitro-1,3 propanediol (BNP) 167,61 mg/l y Dodecyl ethyl ammonium bromide (DEAB) 0,48 mg/l respectively, indicating that behaves as toxic in there organisms, according to EPA (Environmental Protection Agency) approach, and that its accidental presence in industrial effluents can be considered as hazardous for the aquatic environment on the basis of available evidence.

Keywords: aquatic environment, *Artemia*, acute toxicity, disinfection.

Resumen

La toxicidad aguda de una serie de formulados comerciales usados para limpieza y desinfección fue estudiada sobre larvas de *Artemia franciscana* de 24 horas de vida. De acuerdo a la metodología propuesta, poblaciones de larvas de *Artemia franciscana* fueron expuestas a concentraciones seleccionadas de estos formulados, en tiempos de exposición de 24 horas. Los valores de CL₅₀ obtenidos para estos compuestos fueron: Tolcide 0,26 mg/l, Oxone 11,58 mg/l, 2-bromo-2 nitro -1,3 propanediol (BNP) 167,61 mg/l, y Bromuro de dodecil-etil-amonio (DEAB) 0,48 mg/l respectivamente, indicando su comportamiento como elementos tóxicos para estos organismos, de acuerdo con la normativa EPA (Agencia de Protección Ambiental, por sus siglas en inglés), y que su presencia accidental en vertidos industriales puede ser considerada como peligrosa para el medioambiente acuático, según los datos obtenidos.

Palabras clave: medio ambiente acuático, *Artemia*, toxicidad aguda, desinfección

Introducción

Los biocidas quedan definidos como una amplia gama de sustancias activas y preparados que contienen una o más sustancias activas, presentadas en la forma en que son suministradas al usuario y

destinadas a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer el control de otro tipo sobre cualquier organismo nocivo por medios químicos o biológicos. Aunque hoy en día la Agencia de protección Ambiental de Estados Unidos (US-EPA) tiene registrados más de 5,000 formu-

* Autor para correspondencia

E-mail: carbacam@hotmail.com; Fax: +52-(443) 314-2809

laciones, la lista de formulados agrupados por familias es bastante corta y quedan distribuidos en unas pocas categorías: Tipo I: Biocidas para la higiene humana. Tipo II: Desinfectantes usados en ambientes de la vida privada y de la salud pública. Tipo III: Biocidas para la higiene veterinaria. Tipo IV: Desinfectantes para las superficies en contacto con alimentos y piensos y Tipo V: Desinfectantes para agua potable. Es precisamente en el tipo II donde quedarían incluidos los biocidas seleccionados para este trabajo:

Oxone: monopersulfato de potasio; polvo peroxigenado que proporciona una fuerte oxidación no clorada. Es utilizado en productos de higiene de dentaduras, oxidantes de piscinas, etanatos para circuitos integrados y reprocesamiento de pulpa y limpieza de maderas, entre otros, en los que es útil la combinación de su capacidad de oxidación.

Tolcide: Sulfato de tetrakis hidroximetil fosfonio (THPS); utilizado para desinfección de torres de refrigeración y sistemas de renovación de aire actuando contra *Legionella*, productor de fosfamina (fosfuro de hidrógeno) y formaldehído cuando contacta con el medio acuático.

-Bromuro de dodecil etil amonio (DEAB); uno de los principales representantes del grupo de biocidas a base de amonio cuaternario, que se utiliza en una amplia variedad de escenarios para la limpieza y desinfección de superficies y

Pronopol: 2-bromo-2 nitro -1,3 propanediol (BNP); compuesto utilizado como agente microbicida y bacteriostático en multitud de sistemas de renovación de aire, torres de refrigeración.

La amplia utilización de desinfectantes está originando un importante factor de riesgo debido a que periódicamente se viene realizando una prevención sistemática, basada en realizar una correcta desinfección en el entorno de la salud pública y la vida privada. El problema surge cuando realizados dichos tratamientos, estos desinfectantes pasan al agua, hasta llegar a zonas fluviales, donde debido a sus características tóxicas y peligrosas para el medio ambiente, comienzan a ejercer sus efectos tóxicos sobre las poblaciones de organismos que allí viven, llegando finalmente a afectar también estuarios y ambientes salinos. Para evitar dichos problemas se llevan a cabo ensayos que determinan el impacto ambiental. Los ensayos de toxicidad

son bioensayos empleados para reconocer y evaluar los efectos de los contaminantes sobre la biota. Los efectos tóxicos a evaluar pueden ser: mortalidad, inmovilidad, inhibición del crecimiento de la población, alteración del comportamiento, entre otros. La toxicidad aguda se entiende como la capacidad de una sustancia para producir efectos adversos tras una sola dosis. Por ser un parámetro muy evidente, se ha considerado tradicionalmente, la dosis letal media (DL_{50}) como el mejor indicador de la capacidad tóxica de una sustancia aunque esta no puede considerarse como una constante biológica del producto, si no que es un valor modificable por numerosas variables, que lo reducen a un parámetro relativo de referencia. A esta consideración se unen dos estimaciones: DL_{50} inferior a 25 mg/kg la cual es tan fuertemente tóxica que no merece la pena estimarla con más exactitud y DL_{50} superior a 5000mg/kg representante de tan baja toxicidad que tampoco debe ser investigada.

La evaluación de la relación dosis-respuesta es de gran importancia en toxicología, ya que se emplea para determinar la dosis letal media (DL_{50}). El proceso se lleva a cabo administrando varias dosis del compuesto. Ordinariamente se da una sola dosis y el porcentaje de animales que mueren en cada grupo dentro de un periodo seleccionado que suele ser de 24 horas, se representa gráficamente en función de la dosis. A partir de esta curva, se determina la dosis que mata al 50% de los animales y se la designa como DL_{50} . Se escoge este valor de dosis-mortalidad porque puede determinarse con más precisión. La curva es casi una línea recta a nivel de la DL_{50} . La toxicidad aguda se relaciona por tanto con la DL_{50} e indica la gravedad y magnitud de los efectos tóxicos inmediatos.

Dentro de los organismos utilizados como biosensores se encuentra la *Artemia franciscana*, se trata crustáceos de ambientes acuáticos de alta salinidad que configuran un elemento fundamental en el conjunto del zooplacton, principalmente en ambientes de estuario, siendo un importante factor dentro de la cadena trófica de tal manera que la reducción de su población hará peligrar la viabilidad de otras especies superiores acuáticas.

Distintos autores, como Persoone et al. (1989), han podido demostrar que dicho organismo se comporta como un biosensor de contaminación acuática en

ambientes marinos, y como resultado se ha convertido en un elemento fundamental para los estudios de toxicidad, ya que se trata de elementos que tienen una fácil manipulación: pueden obtenerse como huevos encapsulados para su posterior rehidratación en laboratorio y así obtener poblaciones homogéneas de individuos muy capaces de ser utilizados en estos estudios de toxicidad además de ser estos estudios económicos y de fácil realización. Por todo ello, se puede afirmar que la *Artemia* se comporta como un biosensor de alta calidad. Considerando todos estos elementos el objetivo de este trabajo fue valorar la toxicidad aguda de los biocidas mediante exposición sobre larvas de *Artemia* de 24 horas de edad.

Material y Métodos

Biocidas estudiados

Para la realización de los estudios de toxicidad se utilizaron los siguientes desinfectantes: el Monopersulfato de potasio (Oxone), Bromuro de dodeciletil -amonio (DEAB) y 2-bromo-2 nitro-1,3-propandiol (BNP) obtenidos de Sigma (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Switzeland), mientras que el sulfato de tetrakis hidroximetil fosfonio [Tolcide: (THPS)] fue obtenido de Fluka (Fluka Chemie GmbH, Switzeland), todos de amplio uso en ambientes de la vida privada y de la salud pública.

Agua Marina Sintética. La preparación de agua marina se practicó a partir de sal marina obtenida de la compañía Sera (Sera Meersalz, Sera, Germany), especialmente preparada mediante suplementación de calcio y oligoelementos para un mejor cultivo de algas e invertebrados de agua salada. Este preparado se presenta libre de nitratos, fosfatos y salicatos, además de llevar adicionados quelatos especiales que contribuyen a la destoxificación de metales pesados como el cobre.

Para la preparación de agua marina reconstituida, se disolvió dicha sal marina en agua bidestilada y desionizada (Milli-Q) hasta alcanzar una concentración del 35 % y una densidad de 1.022-1.024 g/l. El agua marina así reconstituida fue posteriormente aireada y removida mediante bomba sumergible durante 24 horas, para conseguir las condiciones apropiadas de oxígeno y dióxido de carbono. Finalmente, el agua marina reconstituida se filtró me-

dante filtros de celulosa de 30 μm (Millipore).

Obtención de Artemia franciscana. La obtención de larvas de *Artemia franciscana* se practicó a partir de huevos desecados obtenidos de Argent (Argent Chemical Laboratories, Washington, USA) y utilizando la línea *ARGENTEMIA Grade II Silver Label*, línea procedente del *North Arm Great Salt Lake* (USA) y que garantiza un mínimo de 260.000 huevos/g, de los cuales más de un 92 % eclosionarán en un intervalo para el tiempo de inducción de mínimo (T_0) 9 horas y máximo (T_{90}) 16 horas, obteniendo así poblaciones homogéneas de nauplios, de las que al menos un 80 % tuvieron un tamaño de 500-525 μm . La técnica aplicada se basó en la metodología propuesta por Persoone et al. (1989).

Los huevos desecados fueron hidratados en placas de Petri mediante inmersión en agua destilada a una temperatura de 4 °C, manteniéndolos bajo estas condiciones durante un período de 12 horas en oscuridad. Transcurrido este tiempo, aquellos huevos que flotaban fueron desechados, y el resto se transfirió a una probeta de decantación que contenía agua marina reconstituida a 25 °C y con un pH de 8.6, con una fuente de luz de aproximadamente 1000 Lux. Dicho medio, conteniendo los huevos hidratados, se mantuvo con burbujeo continuo, con el fin de facilitar la eclosión de los huevos.

Bajo estas condiciones, después de 16 a 18 horas que iniciaba la eclosión de los huevos, y transcurridas 20 horas de la incubación de los huevos en el medio salino reconstituido se obtuvo una amplia población de nauplios libres. Dichos nauplios fueron transferidos a placas de Petri con medio salino reconstituido, a 25 °C y bajo condiciones de aireación. Los nauplios fueron mantenidos hasta que alcanzaban las 24 horas de vida, mismos que se utilizaron para la realización de pruebas de toxicidad.

Estudios de toxicidad aguda: letalidad

Distribución de larvas de Artemia. Las larvas de *Artemia* obtenidas, según el estadio de desarrollo larvario estudiado (24, horas de vida), fueron distribuidas en un conjunto de 10 individuos por cada uno de los 24 pocillos existentes en cada una de las placas multipocillo utilizadas. Para ello, un

conjunto de larvas procedentes del total de larvas obtenidas fueron separadas del resto y se transferían a una nueva placa de Petri, teniendo cuidado de pasar el menor volumen de medio salino posible. Posteriormente, y utilizando una pipeta Pasteur, un conjunto de 10 larvas se introducía en cada uno de los pocillos, realizando una confirmación posterior a su traslado, bajo lupa binocular, para asegurarse de que cada pocillo tuviera el número exacto de larvas.

Para la realización de las posteriores exposiciones a los diferentes biocidas evaluados, la columna 1 de la placa multipocillos quedó reservada para los estudios control (sin exposición al compuesto)

Exposición de las larvas a los biocidas

Exposiciones previas. En cada uno de los biocidas ensayados se realizaron ensayos de toxicidad previos, con el fin de determinar los valores de concentración letal mínima (CL_{min}) y concentración letal máxima (CL_{max}).

Para su obtención, se realizaron ensayos sobre placas multipocillo, a concentraciones crecientes de cada uno de los biocidas ensayados. Así, con posterioridad a la exposición, las placas multipocillo fueron incubadas a 25 °C en una cámara de cultivo, en ambiente de oscuridad y durante un periodo de 24 horas. Posteriormente, se realizó la lectura de la placa bajo lupa binocular, contabilizando el número de larvas vivas y muertas en cada uno de los pocillos. En este sentido, y con el fin de establecer parámetros similares para todos los estudios, se consideró que una larva estaba muerta cuando no exhibía ningún tipo de movimiento, ni interno ni externo, durante un período de observación de 10 segundos.

Para la validación de cualquier ensayo realizado, fue necesario que los datos obtenidos en las columnas control, tanto control negativo como control del solvente en su caso, fueran iguales o superaran el 90 % de supervivencia de larvas, descartando todo aquel ensayo que no superara este requisito.

De esta forma, se obtuvieron las correspondientes CL_{min} y CL_{max} para cada uno de los cuatro biocidas ensayados. De esta forma, quedaron establecidos los rangos de concentración que posteriormente serían aplicados para los diferentes ensayos de

toxicidad aguda.

Exposiciones finales. Una vez establecidas las correspondientes CL_{min} y CL_{max} , se practicaron las correspondientes exposiciones a los diferentes biocidas. Las condiciones de ensayo se practicaron de igual modo a como fueron realizadas para los ensayos preliminares, realizando un total de 8 réplicas por cada uno de los ensayos.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos después de la exposición de larvas de *Artemia franciscana* a cada uno de los biocidas estudiados en el tiempo de desarrollo larvario correspondiente a 24 horas, se presentan resumidos en la tabla 1 y figura 1.

En la figura 1 se observa que el THPS fue el compuesto más tóxico para las larvas seguido del DEAB, Oxone y el BNP, respectivamente. Los cuatro compuestos tuvieron valores de CL_{50} de mg/l.

Según a la clasificación de toxicidad aguda propuesta por la EPA, para la determinación del riesgo medioambiental de los distintos contaminantes, los de clase I serían compuestos que poseen CL_{50} menor a 1 mg/l, los de clase II la tendrían comprendida entre 1 y 10 mg/l y por último aquellos que tuviesen una CL_{50} entre 10 y 100mg estarían dentro de la clase III. En el presente estudio los resultados obtenidos para el THPS (CL_{50} 0.26 mg/l) y el DEAB (CL_{50} 0.48 mg/l) en el efecto agudo sobre larvas de 24 horas sería clasificado como de clase I, no ocurriría así en el caso del oxone (CL_{50} 11.58 mg/l) en el que los valores de CL_{50} obtenidos permite catalogarlo como de clase III, y para el BNP (CL_{50} 167.61 mg/l) se evidenció una toxicidad aguda baja y fuera de los valores de clasificación.

Existen suficientes datos en la literatura que consideran a las larvas de *Artemia* como biosensores y reportan la diferente sensibilidad frente a los biocidas ensayados, dicha sensibilidad varía dependiendo de la especie con la que se compare (Shazili and Pascoe, 1986; Williams et al., 1986).

Aunque también la sensibilidad a los distintos contaminantes puede variar dependiendo de los distintos estadios de desarrollo. Los estudios de

Tabla 1. Valores de concentración letal 50 (CL₅₀) obtenidos para cada uno de los compuestos biocidas ensayados, sobre larvas de *Artemia franciscana* de 24 horas de vida con sus correspondientes Límites de Confianza al 95 % (LC 95 %).

Compuesto	CL ₅₀ (LC 95 %)	
	N°	24 h
Sulfato de tetrakis hidroximetil fosfonio (THPS Tolcide)	12	0,26 mg/l (0,17- 0,14)
Bromuro de dodecil etil amonio (DEAB)	12	0,48 mg/l (0,26- 0,87)
Monopersulfato de potasio (OXONE)	12	11,58 mg/l (3,83- 34,96)
2-bromo-2 nitro – 1,3 propanediol (BNP)	12	167,61 mg/l (154,53-181,80)

N°= n° de larvas

toxicidad normalizados son usualmente realizados con organismos neonatos o juveniles, ya que se les reconoce más sensibilidad, asegurando así obtención de resultados que establezcan niveles de seguridad mayores frente a las exposiciones. Así, la relación quedaría establecida como formas larvianas > formas juveniles > formas adultas (Hutchinson et al., 1998).

Dentro de los efectos medioambientales de los desinfectantes es conocido que el de los bromuros es prácticamente inexistente, y que bajo las condiciones de uso habituales no existe riesgo de aparición de efectos adversos en los organismos acuáticos. Sin embargo, en 1984 la EPA solicitó una serie de pruebas para determinar los efectos ecológicos de éstos, de cara a la caracterización de la toxicidad en aves y peces. Los resultados de estas pruebas indicaron que eran compuestos prácticamente atóxicos, aunque exhibían cierto grado de toxicidad sobre trucha arcoiris y *Daphnia magna*. En estudios reportados de toxicidad aguda, el 2-bromo-2-nitro-1,3,-propanediol (BNP) es un compuesto poco tóxico para aves, y moderadamente tóxico para peces de agua dulce e invertebrados terrestres. Sin embargo, se comporta como altamente tóxico para invertebrados de estuario y marinos, y sólo es ligeramente tóxico para peces marinos, siendo el riesgo toxicológico para organismos acuáticos centrado en el punto de descarga principalmente.

Al igual que en los ecosistemas de agua dulce, tampoco se tienen muchos datos acerca de su efecto sobre organismos marinos y de estuario. Se han

practicado ensayos con moluscos, utilizando ostras (*Crassostrea gigas*) y se observó que estos organismos fueron muy susceptibles a la contaminación por BNP, ya que la CL₅₀₍₄₈₎ establecida mediante ensayos estáticos, fue de 0.78 mg/l. El verdadero riesgo ambiental del Tolcide, reside en su capacidad de producir fosfamina (fosfuro de hidrógeno) y formaldehído cuando se pone en contacto con el medio acuático. Con respecto al formaldehído, estudios estáticos realizados con *Daphnia magna* determinaron una LC₅₀₍₂₄₎ de 52 mg/l (Bringmann y Khun, 1977). Los estudios sobre *Oncorhynchus mykiss* (trucha arco iris), mediante ensayos a 48 horas con renovación del medio, determinaron que la concentración necesaria para ser letal fue de 20-30 mg/l, (Lysak y Marcinek, 1972). También se ha descrito el efecto ambiental de la exposición de formaldehído en medios acuáticos marinos. El grupo de las diatomeas se ve afectado, la especie *Chaetoceros gracilis* sufre una fuerte reducción en su población cuando se expone a concentraciones de 0.1-5 mg/l, (Suzuki y Tokuda, 1998). Estudios sobre moluscos, aplicando ensayos con renovación del medio, mostraron que este compuesto es capaz de reducir el tiempo de supervivencia (LT) del *Mytilus edulis*. Estudios mediante ensayos estáticos, exponiendo a individuos de la especie *Mytilus edulis* a concentraciones crecientes de formaldehído mostraron que a niveles de 0.00018 % eran suficientes para provocar la muerte de todos los individuos en pocos minutos. La contaminación marina por formaldehído también afecta a distintos géneros de

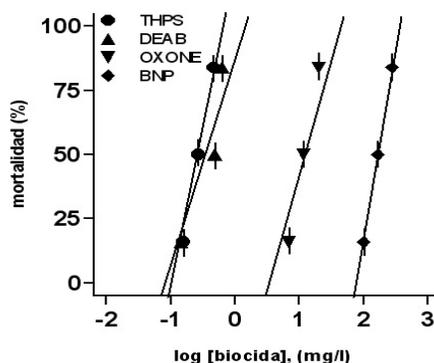


Fig.1. Mortalidad de *Artemia franciscana* (%) a los diferentes biocidas ensayados (THPS: Tolcide, sulfato de tetrakis hidroximetil fosfonio; DEAB: Bromuro de dodecil etil amonio; OXONE: Oxone; monopersulfato de potasio; BNP: 2-bromo-2 -nitro -1.3 propanediol).

peces marinos. Estudios realizados en salmónidos como el *Chanos chanos* determinaron una $LC_{50(96)}$ de 232 mg/l, subiendo a 241, 260 y 322 mg/l para 72, 48 y 24 horas, respectivamente (Cruz y Pitogo, 1989).

En el caso del Cloruro de Tetrakis hidroximetil fosfonio (THPC) otro donante de formaldehído, resultados previos reportados sobre *Artemia salina* tuvo valores de CL_{50} de 7.82 $\mu\text{g/l}$ (Bartolomé y Sánchez Fortín, 2005) mismos que difirieron sustancialmente de los obtenidos por Espiritu (1995), con valores superiores de CL_{50} de 1.99-2.52 mg/l sobre *Artemia Franciscana*. En general, los valores de CL_{50} para THPC existentes en la literatura para distintos organismos de agua marina resultan ser mucho mayores que los obtenidos en el presente estudio, quedando incluidos dentro del rango de mg/l, tanto en crustáceos (Portmann, 1972) moluscos (Aunaas et al., 1991) o peces (Birdsong, 1971). Únicamente la exposición frente a hidras de la especie *Hydra attenuata* origina una inhibición del crecimiento a concentraciones de 3 $\mu\text{g/l}$ (Kudla, 1984).

En el presente estudio realizado con Sulfato de tetrakis hidroximetil fosfonio valores obtenidos de CL_{50} 0.26 mg/l, también resultan inferiores a los obtenidos en la literatura para distintos organismos de agua marina por el donador de formaldehído

THPC. Estos datos indican que las larvas de *Artemia* presentan una gran sensibilidad a la presencia de este contaminante en medios de agua salina.

En cuanto al Oxone son pocos los datos que existen y estos proceden de los trabajos realizados por Svobodova et al. (1983), los cuales establecen la letalidad que provoca el monopersulfato sobre diferentes organismos acuáticos en exposiciones de 48 horas. Estos datos indican una baja toxicidad en organismos copépodos de la especie *Cyclops strenuus*, con $LC_{50(48)}$ de 1175 mg/l. Algo más sensibles fueron los individuos del género *Tubicidae*, en los que la $LC_{50(48)}$ tuvo un valor de 575 mg/l. Los estudios realizados con *Daphnia magna* presentaron una $LC_{50(48)}$ de 92 mg/l. En cuanto a la toxicidad sobre peces de aguas continentales, la especie *Oncorhynchus mykiss* resultó ser la más sensible, con un $LC_{50(48)}$ de 234 mg/l, pero para peces guppy (*Poecilia reticulata*) la $LC_{50(48)}$ alcanzó los 845 mg/l.

En lo que respecta a Bromuro de dodecil etil - amonio (DEAB), al hacer referencia a compuestos amónicos en términos toxicológicos, en el medio ambiente se plantea existe un equilibrio entre NH_3 (no ionizado) y NH_4^+ (ionizado), de tal forma que las pruebas para su determinación se plantean de forma global. La toxicidad es atribuida fundamen-

talmente a la forma no ionizada, siendo dependiente del pH del medio y temperatura, por lo que, cuanto más alto sea el pH y temperatura, mayor toxicidad plantea la presencia de NH_3 .

De los datos presentados, se puede deducir que las concentraciones de amonio total en un medio que posea un pH bajo son mejor toleradas por la fauna piscícola que cuando dicho pH aumenta, mientras que las concentraciones de NH_3 resultan más peligrosas cuanto más bajo sea el valor de pH. Asumir como valor de seguridad 1/10 de los valores establecidos, sería una medida conveniente para prevenir efectos adversos en la fauna piscícola, y esto se debe de aplicar al DEAB. Los efectos ecotoxicológicos de estos compuestos en agua dulce sobre *Daphnia magna*, ha sido reportado por Allen et al. (1995). Estos autores realizaron pruebas a nivel estático, estudiando cambios tóxicos referentes a la inhibición del proceso de alimentación de estos individuos, que determinó una $\text{LC}_{50(24)}$ de 0.38 mg/l; también se determinó el efecto letal de estos compuestos sobre los biosensores, mediante ensayos con renovación del medio, y se obtuvo una $\text{LC}_{50(48)}$ de 0.49 mg/l. Roghair et al. (1991) también realizaron estudios sobre moluscos de agua dulce sobre la especie *Lymnaea stagnalis*, utilizando ensayos con renovación del medio. Los resultados mostraron valores de la $\text{LC}_{50(96)}$ de 18 mg/l, observando que la concentración disminuía hasta 1 mg/l cuando los organismos eran expuestos durante 21 días. La exposición durante 24 horas presentó una LC_{50} superior a 56 mg/l.

Con compuestos de amonio, investigaciones realizadas respecto al factor letal con peces de la especie *Ictalurus punctatus*, pusieron en evidencia una $\text{LC}_{50(48)}$ de 1.12 mg/l, pasando a 1.28 mg/l si las pruebas de tipo estático se realizaban a 24 horas (Willford, 1966). Este mismo autor también estudió el efecto letal de estos compuestos sobre *Lepomis macrochirus*, obteniendo concentraciones de 1.68 y 2.1 mg/l para la LC_{50} a 48 y 24 horas respectivamente. Sin embargo, estos datos no son coincidentes con los obtenidos por Cope (1965), ya que este último obtuvo concentraciones de 0.51 y 0.55 mg/l, correspondientes a la LC_{50} a 48 y 24

horas, respectivamente.

Bills et al. (1993), estudiaron el efecto de estos compuestos amónicos sobre la especie *Morone saxatilis* para conocer la sensibilidad de determinados peces a productos químicos usados en acuicultura. De sus trabajos se obtuvieron valores de la $\text{CL}_{50(96)}$ en un rango de 0.5 hasta 1.9 mg/l. Con respecto a datos obtenidos sobre letalidad a diferentes tiempos de exposición, concentraciones de 1.4 -2.7 mg/l correspondían a $\text{LC}_{50(24)}$, y la correspondiente a 72 horas fue 0.5-1.5 mg/l. También realizaron ensayos a tiempos muy cortos de exposición, obteniendo una LC_{50} de 6-16.4 mg/l cuando los individuos se exponían a períodos menores de una hora. Estudios realizados con *Oncorhynchus mykiss* demostraron una alta toxicidad de estos compuestos sobre estos peces. Willford (1966) determinó una CL_{50} de 3.24 mg/l para exposiciones de tipo estático de 24 horas, y 2.57 mg/l para exposiciones de 48 horas. También en medioambiente de agua marina se han realizado ensayos con organismos dinoflagelados de la especie *Gymnodinium brevis*, Kutt y Martín (1974) establecieron que concentraciones de 12.5 mg/l, en periodos de exposición estática de 48 horas, provocaban la mortalidad al 27 % de la población, y que concentraciones de 66.67 mg/l hacía decrecer significativamente la población de estos dinoflagelados ante compuestos amónicos, y finalmente sobre moluscos marinos, concretamente sobre *Mercenaria mercenaria*, Davis y Hidu (1969) realizaron ensayos tanto de letalidad como de las alteraciones que la exposición a estos compuestos, provocaba sobre estos biosensores. De esta forma, quedó establecida una LC_{50} de 0.14 mg/l realizando ensayos con renovación del medio durante 12 días de exposición. Los estudios mediante ensayos estáticos a 48 horas puso en evidencia que la LC_{50} para alteraciones del desarrollo se cifraba en 0.19 mg/l. Con respecto al parámetro de crecimiento, estos mismos ensayos a 12 días de exposición demostraron que la concentración mínima, por debajo de la cual no aparecían estos efectos, era de 0.1 mg/l.

Así, por los resultados obtenidos en el presente estudio, y al comparar éstos con los reportados en

la literatura, se pudo establecer que tanto el Tolcide, Oxone, Proponol y Bromuro de dodecil etil amonio se comportan como tóxicos sobre larvas de *Artemia* de 24 horas de edad, cuando son evaluados mediante ensayos de toxicidad aguda.

Bibliografía

- Allen Y; Calow P y Baird DJ (1995). A mechanistic model of contaminant-induced feeding inhibition in *Daphnia magna*. Environmental Toxicology and Chemistry, 14:1625-1630.
- Aunaas T; Einarson S; Southon TE y Zachariassen KE (1991) The effects of organic and inorganic pollutants on intracellular phosphate compounds in blue mussels (*Mytilus edulis*). Compendium Biochemical and Physiology, 100C:89-93.
- Bartolomé, M.C. y Sánchez-Fortún, S. (2005) Effects of selected biocides used in the disinfection of cooling towers on toxicity and bioaccumulation in *Artemia* larvae Environmental Toxicology and Chemistry. 24:3137-3142.
- Bills TD; Marking LL y howe GE (1993) Sensitivity of juvenile striped bass to chemicals used in aquaculture. Resource Publication. 192, Fish Wildlife Services, USDI, Wasington, DC:11.
- Birdsong CI (1971) Toxicity of certain chemicals to juvenile pompano. Programe. Fish-Cultive., 33:76-80.
- Brigmann G y Kuhn R (1977) The effects of water pollutants on *Daphnia magna*. Z Wasser-Abwasser-Forsch, 10:161-166.
- Cope OB (1965) Sport fishery investigations. In: Effects of Pesticides on Fish and Wildlife, USDI Fish and Eildl. Circular 226:51-63.
- Cruz ER y Pitogo CL (1989) tolerance level and histopathological response of milkfish (*Chanos chanos*) fingerlings to formalin. Aquaculture, 78:135-145.
- Davis HC y Hidu H (1969) Effects of pesticides on embryonic development of clams and oysters and on survival and growth of the larvae. Fish Bulletin, 67:393-404.
- Espiritu EQ; Janssen CR y Persoone G (1995) Cyst-based toxicity tests. VII. Evaluation of the 1-h enzymatic inhibition test (fluotox) with *Artemia* nauplii. Environmental Toxicology Water Quality, 10:25-34.
- Frost TK; Gronlie L; Koksvik G; Tessem PM y Aunaas T (1993) Factors affecting toxicity of formaldehyde in *Mytilus edulis*. In: Environmental and Biological Factors Affecting Toxicity of Formaldehyde, Chapter Vb. Report. Bectos Program., 95-123.
- Hutchinson TH, Solbe J, Kloepper-Sams PJ. (1998). Analysis of the ECETOC aquatic toxicity (EAT) database.III-Comparative toxicity of chemical substances to different life stages of aquatic organisms. Chemosphere, 36:129-142.
- Kutt EC y Martin DF (1974) Effect of selected surfactants on the growth characteristics of *Gymnodinium breve*. Marine Biology, 28:253-259.
- Kudla AJ (1984) Hydra reaggregation: A rapid assay to predict teratogenic hazard induced by environmental toxicity. J. Wash Academy Science, 74:102-107.
- Lin T; Dong B; Liu Z; Dun W; SunH y Kong A (1986) Biological effects of formaldehyde-polluted water. Acta Science. Circumstant/Hanjing Kexue Xuebao, 6:107-113.
- Lysak A y Marcinek J (1972) Multiple toxic effect of simultaneous action of some chemical substances on fish. Tocz. Nauk. Roln. Ser. H. Rybactwo., 94:53-63.
- Office of Pesticide Programs (OPP) (1995) Environmental Effects Database (EEDB) Environmental Fate and Effects Division, US EPA, Wasington, DC.
- Persoone G, Van de Vell A, Van Steetegem M, Nayer B (1989): Predictive value for laboratory tests with aquatic invertebrates:Influence of experimental condiction. Aquatic Toxicology, 14: 149 – 166.
- Portmann JE (1972) Results of acute toxicity tests with marine organisms, using a standard method. In: M Ruivo (Ed.), Marine Pollution and Sea Life, FAO, Rome, Italy; Fishing News (Books) Ltd., London, England: 212-217.
- Roghair CJ; Buijze A y Schoon HNP (1991) Maximum permissible level of the cationic surfactants DTDMAC for aquatic ecosystems. Rep. N° 719102007, National Institute Public Health Environmental Protection, Bilthoven, Netherlands: 71.
- Shazili NAM., Pascoe D. (1986).Variable sensitivity of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) eggs and alevins to heavy metals. Bulletin Environmental Contamination Toxicology., 36:468-474.
- Suzuki, M y Tokuda M (1998) Concentration of formaldehyde affecting growth of marine diatoms. Bulletin National Resources Institute Aquaculture. Yoshoku Kenkyusho Kenkyu Hokoku, 27:43-45.
- Svobodova Z; Machova J; Faina R; Stanek P y Schneedorfer J (1983). Acute toxicity of peroxidisulphates to aquatic organisms, Bulletin. Vyzk. Ustav. Ryb. Hydrobiology. Vodnany, 19:17-24.
- Willford WA (1966) Toxicity of 22 therapeutic compounds to six fishes. Invest. Fish Control No 18, Resources. Publication. N° 35, Fish Wildlife. Services. Sport Fish Wildlife. USDI, Wasington, DC:10.
- Williams KA, Green DWJ, Pascoe D, Gower DE. (1986). The acute toxicity of cadmium to different larval stages of *Chironomus riparius* (diptera: chironomidae) and its ecological significance for pollution regulation. Ecologia 70:362-366.
- Utsunomiya A; Watanuki T; Matsushita K y Tomita I (1997) Toxic effects of linear alkylbenzene sulfonate, quaternary alkylammonium chloride on *Dunaliella* sp as measured by ¹H-NMR analysis of glycerol. Chemosphere, 35:1215-1226.

Este trabajo fue seleccionado de los presentados en el II Congreso Regional de Ciencias Ambientales celebrado en Ciudad Obregón, México, en Noviembre de 2006.