

# ENSAYOS PRELIMINARES PARA DETERMINAR CONCENTRACIONES ADMISIBLES DE ALGUNOS COMPUESTOS TÓXICOS EN AGUAS MARINAS O ESTUARINAS

1. Luis A. Calero H, 2. Mónica M. Zambrano O.

## RESUMEN

Teniendo en cuenta de que en Colombia no se encuentra reglamentado en el Decreto 1594 de 1984, las concentraciones admisibles para Endosulfan y Glifosato en aguas marinas, el Centro Control de Contaminación del Pacífico incursionó en este campo a través de ensayos de Toxicidad aguda, dado que estos compuestos se hallan con frecuencia en los cuerpos de agua marina producto de las actividades antropogénicas. Para llevar a cabo este estudio se efectuaron pruebas de toxicidad aguda en camarones juveniles de la especie *Penaeus vannamei* encontrando las concentraciones letales para los mismos. Con los resultados de las pruebas se determinó que las concentraciones admisibles en aguas marinas o estuarinas para Endosulfan y Glifosato son de 0.00845 ppb y 14.69 ppb respectivamente.

## INTRODUCCIÓN

Muchas de las sustancias tóxicas presentes en el medio marino muestran amplificación biológica, como ocurre con los pesticidas que además de ser asociados con la presencia de tumores cancerígenos, son adicionalmente bastante persistentes en el medio acuoso y, no solo alteran la tasa de reproducción en aves, sino que inducen cambios en el comportamiento de peces causando problemas de reproducción, afectan la tasa de mortalidad de juveniles y además, son directamente tóxicos para algunas especies.

Los bioensayos son las técnicas que permiten conocer el perjuicio que pueden causar a los organismos este tipo de desechos y el comportamiento de los mismos en un cuerpo de agua, permitiendo determinar la toxicidad de compuestos antropogénicos, proporcionando información valiosa para establecer el impacto potencial de contaminantes en el medio marino. Además dicha información puede aplicarse en el establecimiento de criterios de calidad de agua y el posible impacto de sustancias o energía sobre el ambiente.

La selección de los compuestos de estudio se encamina a que no existen valores que establezcan una concentración segura de los mismos en el medio pues, solo se mencionan en el decreto 1589 de 1984 a los pesticidas como sustancias de interés sanitario que deben ser estudiadas y evaluadas con el fin de llegar a establecer límites de las mismas que protejan la vida existente en el medio marino.

## METODOLOGÍA

### ENSAYOS DE TOXICIDAD

Para determinar criterios de calidad de aguas marinas o estuarinas es necesario efectuar pruebas de toxicidad aguda, que consisten en exponer organismos de la especie seleccionada a soluciones de ensayo que contienen al menos cinco concentraciones diferentes del compuesto de estudio cada una con sus replicas lo que permite obtener valores con mayor confiabilidad. Se utilizan uno o más controles que consisten en exponer organismos a agua de disolución sin añadir el compuesto de ensayo, (FAO, 1981).

El camarón *P. vannamei* que se selecciono para realizar ensayos de toxicidad ya que presenta las características requeridas en un organismo para desarrollar pruebas de este tipo (FAO, 1981).

Se realizaron ensayos adicionales con postlarvas de la misma especie (PL12) y con *Artemia salina*, comparando el grado de susceptibilidad sin embargo, los juveniles de camarón resultaron mas sensibles lo cual permite obtener concentraciones seguras que protejan a la especie (*P. vannamei*) y a la vez, a la gran cantidad de organismos que presentan una sensibilidad igual o menor.

Los organismos se aclimataron previamente (el tiempo depende de la sensibilidad del organismo variando de unos cuantos días a varias semanas) y se alimentan hasta 24 horas antes de dar inicio al ensayo, siendo el tiempo de suspensión de alimento sujeto a variaciones de acuerdo al organismo de estudio. La fluctuación a nivel de parámetros fisicoquímicos debe ser mínima (de presentarse) por lo que se realizan mediciones de los mismos cada hora (las primeras 6 horas del ensayo y posteriormente, cada 24 horas, (FAO, 1981).

Luego del proceso de aclimatación, los organismos son ubicados en acuarios tomando uno de los acuarios como control (Sin compuesto) y por lo menos cinco más para adicionar a cada uno concentraciones distintas del compuesto de estudio. Adicionalmente, se tienen dos acuarios más (denominados replicas por cada concentración, incluyendo el control).

## COMPUESTOS DE ENSAYO

### THIONIL - HOECHST (Endosulfan).

Este plaguicida contiene Endosulfan como ingrediente activo en una proporción del 35% P/V, siendo un insecticida orgánico (organoclorado) de uso agrícola y es tóxico para los peces.

### ROUNDUP- MONSATO (Glifosato).

El glifosato es un ácido orgánico débil formado por una molécula de glicina y otra de fosfometilo. Es un herbicida que actúa después del brote de manera sistémica y no selectiva, y se utiliza en zonas agrícolas de todo el mundo.

## DETERMINACION DE LOS VALORES DE CL 50

Los cálculos para determinar el valor de CL50 se realizaron partiendo del programa estadístico "PROBIT" "REGRE" y "CL50" basados en el método de Bliss (Stora, 1972), sus resultados se comparan con los obtenidos al realizar cálculos consultando tablas de probits ; lo que finalmente permite o no aceptar la curva de mortalidad y por tanto, la concentración obtenida como CL50. La proyección de los valores de CL50 esperados para 96 horas cuando la duración de los ensayos era menor en cuanto a tiempo, estos valores se determinaron con el uso del paquete es-

tadístico STATGRAPHIS a través de regresiones, determinando la ecuación de curva correspondiente.

La determinación de valores admisibles se estableció partiendo de factores de aplicación equivalentes a 0.01 y 0.10 de la CL50 incluso, puede llegar a ser apropiado utilizar factores de 0.001 (CPPS,1988). Para determinar dichos valores se recurrió a la información existente para productos como el Endosulfan (Margalef, 1982) y el Glifosato (UNEP/ILO/WHO, 1994), estableciendo los factores de aplicación más acordes con la misma.

### THIONIL (Endosulfan)

Luego de realizar 3 pruebas de búsqueda se logro establecer un rango de concentraciones (9 -40 ppb) para realizar el ensayo definitivo. Los valores de CL50 a 24 horas equivalen a 10.1 ppb con 20 organismos/acuario (Ver tabla 1).

La mortalidad presentada luego de 48 horas de exposición muestra un valor de CL50 equivalente a 7.37ppb, realizando una corrección de mortalidad del 5% (20 organismos expuestos por concentración), los valores registrados para este periodo de tiempo disminuyen en algunas concentraciones debido a la corrección de mortalidad sin embargo, esto se compensa al realizar los cálculos para determinar el valor de CL50 que igualmente disminuye como es de esperarse.

Al prolongar la exposición los camarones a 72 horas, se estableció una CL50 de 8.8 ppb, aunque no se obtuvieron datos posteriores que permitieran observar la mortalidad registrada a 96 horas de exposición si fue posible, luego de tabular los datos correspondientes a, los tres periodos de tiempo (24, 48 y 72 horas) establecer el valor de CL50 esperado para a 96 horas.

Tabla 1. Porcentajes de mortalidad y valores de CL50 para 24, 48 y 72 horas de exposición de *Penaeus vannamei* al Endosulfan.

CONCENTRACIÓN (ppb)	% Mortalidad		
	24 Horas	48 Horas	72 Horas
9	45	52.6	60
10	45	68.4	50
20	90	89.4	90
30	95	94.7	100
40	100	100	100
CL50	0.0101	0.00737	0.0088

### ROUNDUP (Glifosato).

Con este ensayo no se recurrió a tanteos ya que, se tenían referencias de CL50 para diversos grupos de organismos (UNEP/ILO/WHO, 1994), así que se estableció un rango de concentraciones que cubriera dicha infor-

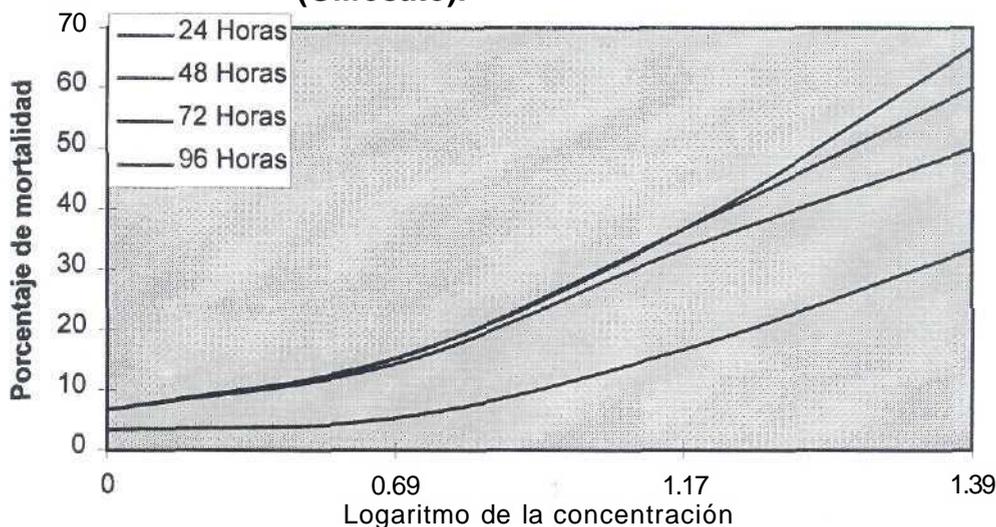
mación, los porcentajes de mortalidad y valores CL50 se muestran en la tabla 2. El valor de CL50 a 96 horas semeja el reportado en la literatura para organismos acuáticos, equivalente a 13000 ppb en peces (UNEP/ILO/WHO, 1994)

Tabla 2. Porcentajes de mortalidad y valores de CL50 para 24,48, 72 y 96 horas de exposición de *Penaeus vannamei* al Glifosato.

CONCENTRACIÓN	% Mortalidad			
	24 Horas	48 Horas	72 Horas	96 Horas
1000	3.33	6.66	6.66	6.66
5000	5.28	14.29	14.29	15.19
15000	16.66	33.33	33.33	36.66
25000	33.33	50	50	66.66
CL 50	85.67	31.71	31.71	18.53

Los porcentajes de mortalidad corregidos pueden observarse en la figura 1.

**Figura 1. Dosis letal para 24 horas en *Penaeus vannamei* al ser expuesto al Roundup (Glifosato).**



Es importante resaltar que a pesar de que este compuesto tiene como ingrediente activo una sustancia que ha generado gran polémica por su uso.

Ha sido demostrado que la toxicidad del glifosato de calidad técnica para los invertebrados acuáticos varía entre ligera y muy ligera (WHO, 1994); lo cual se corrobora al comparar los resultados obtenidos con los dos plaguicidas.

La toxicidad del Glifosato fue menor que la presentada por el Endosulfan pues, los valores de CL50 obtenidos muestran que, **ante** una exposición de 72 horas el valor reportado para Glifosato es de 21.600 ppb, mientras que para el Endosulfan es de 8.8 ppb, evidenciando que concentraciones mínimas de este último compuesto igualan la mortalidad generada por una concentración 21.52 veces superior lo cual, se ratifica al comparar los Valores obtenidos proyectando el comportamiento de la mortalidad a 96 horas, como puede observarse en la tabla 3).

Tabla 3. Comparación entre porcentajes de mortalidad, y valores de CL50 para 24, 48, y 72 horas de exposición de *Penaeus vannamei* al Glifosato y al Endosulfan.

Concentración (ppm)	MORTALIDAD			MORTALIDAD			Concentración (ppm)
	GLIFOSFATO	GLIFOSFATO	GLIFOSFATO	ENDOSULFAN	ENDOSULFAN	ENDOSULFAN	
	24 Horas	48 Horas	72 Horas	24 Horas	48 Horas	72 Horas	
1	3.33	6.66	6.66	50	50	60	0.009
5	5.2	14.3	15.3	30	50	60	0.01
15	16.66	33.33	36.66	80	80	90	0.02
25	33.33	50	60	90	90	100	0.03
CL 50	85.67	31.71	21.6	0.010	0.0073	0.0088	CL 50

## CRITERIOS DE CALIDAD ADMISIBLES EN UN CUERPO DE AGUA

En nuestro país, las normas que se han establecido para el buen uso y manejo del agua se encuentran plasmadas en el decreto 1594 de 1984, determinando los criterios de calidad admisibles para la destinación del recurso para preservación de flora y fauna, en aguas dulces, frías o cálidas, marinas o estuarinas. A pesar de que dicho decreto aun se encuentra vigente, carece de información a nivel de ciertas sustancias que en el mismo, se plantean como de interés sanitario. Los estudios para este tipo de sustancias se limitan a proporcionar información sobre concentraciones letales, más no presentan avances que aporten al establecimiento de criterios de calidad admisibles para nuestras aguas.

Cuando no se tiene información específica sobre los efectos subletales, la concentración de una sustancia tóxica que es "segura" para una especie en particular en un agua dada (equivalente a criterios de calidad admisibles), se calcula multiplicando la CL50 determinada para esa especie en esa misma agua, por el factor de aplicación apropiado aunque, muchos de esos valores se basan en datos experimentales muy limitados por lo cual deben comprobarse. La mayoría de dichos valores se encuentran entre 0.01 y 0.10, o sea que se puede estimar que la concentración "segura" varía entre 0.01 y 0.10 de la CL 50. En ocasiones puede ser apropiado un factor de aplicación de 0.001 (CPPS, 1988).

A partir de los datos obtenidos luego de realizar varios ensayos de toxicidad aguda, y con los valores de CL50 a 96 horas de exposición de los organismos, pueden plantearse concentraciones "seguras" de los compuestos estudiados para un gran porcentaje de organismos marinos ya que pueden ser bastante sensibles a la presencia de sustancias ajenas a su medio, y al establecer concen-

traciones que les garanticen la sobrevivencia, se protege simultáneamente a los organismos con igual o menor sensibilidad.

En el caso del Endosulfan, según el departamento de protección ambiental del estado de la Florida, para las aguas marinas la concentración que protege la vida humana, más no la acuática equivale a  $< 0.0087$  ug/L (ppb), y teniendo en cuenta que el valor de CL50 más bajo reportado durante este ensayo equivale a  $0.00845$  ppm (8.45 ppb), se eligió como factor de aplicación que permite establecer concentraciones al menos seguras para la vida humana el equivalente a 0.001, obteniendo así un valor de  $0.00845$  ppb, que se encuentra por debajo de la concentración previamente reportada.

También es importante mencionar que el valor de CL50 más bajo que pudo hallarse en la literatura para este compuesto equivale a  $0.00002$  ppm (0.02 ppb) para peces frente a concentraciones de 40 a 50 ppm para ratas y 70 ppm para abejas (Margalef, 1982) lo cual, ratifica al valor de 0.001 como factor de aplicación apropiado para este compuesto ya que, proporcionado como concentración admisible un valor de CL50 inferior al presentado por los peces.

Para el Glifosato, se sabe que concentraciones mayores a 29 ppb de Roundup/L inhiben el crecimiento de los micelios de las ectomicorrizas en cultivos puros aunque, también se tienen datos de exposición de peces con valores de CL50 a 96 horas de 2.4 a 1000 ppm que muestran una baja toxicidad. El resultado obtenido luego de realizar el ensayo equivale a  $14.69$  ppm (14690 ppb) así que, el factor de aplicación más conveniente, es el equivalente a 0.001. Finalmente, el valor establecido como posible valor admisible es de  $14.69$  ppb.

Es importante resaltar que factores externos, como ocurre con las condiciones ambienta-

les, pueden incrementar o disminuir la toxicidad de los compuestos de ensayo, por lo que deben realizarse ensayos con especies nativas, obteniendo una mejor apreciación de lo que realmente puede ocurrir en su habitat ante la presencia de compuestos ajenos al mismo.

Las sustancias estudiadas, sus respectivos valores de CL50 y sus niveles admisibles pueden observarse en la tabla 6.

Tabla 6. Concentraciones admisibles de Endosulfan, Glifosato para *Penaeus vannamei*.

<b>COMPUESTO</b>	<b>CI 50 (96 horas de exposición)</b>	<b>Factor de aplicación</b>	<b>CONCENTRACIONES ADMISIBLES</b>
Endosulfan	8.45 ppb	0.001	0.00845 ppb
Glifosato	14.690 ppb	0.001	14.69 ppb

## CONCLUSIONES

Los juveniles de *P. vannamei* son excelentes organismos para realizar ensayos de este tipo ya que, pueden mantenerse en cautiverio presentando bajas tasas de mortalidad sin dejar de presentar sensibilidad ante la presencia de compuestos antropogenicos, por lo que los valores establecidos como aceptables para esta especie pueden ajustarse de forma general a los demás grupos de organismos marinos.

De los compuestos ensayados, los pesticidas presentaron mayor toxicidad y por tanto mayor peligro para los organismos acuáticos siendo el Endosulfan el compuesto mas toxico.

## RECOMENDACIONES

*Ministerio del Medio Ambiente*

Actualizar el Decreto 1594/84 en su artículo 45, para lo cual se propone anexar lo siguiente:

"Los criterios de calidad admisibles para la destinación del recurso para preservación de flora y fauna, en aguas marinas o estuarinas son los siguientes:

<b>COMPUESTO</b>	<b>AGUA MARINA O ESTUARINA</b>	<b>UNIDADES</b>
ENDOSULFAN	0.00845	ppb
GLIFOSATO	14.69	ppb

Continuar con los ensayos de toxicidad para otras sustancias que se encuentren en el medio marino con el fin de actualizar el decreto 1594.

## BIBLIOGRAFÍA

- CALERO, L, GARAY, J y PALACIOS, M., Ensayo de toxicidad aguda en peces a partir de una sal de cromo (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>). Informe del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas y el Centro Control Contaminación del Pacífico, 1989.
- CPPS, Curso regional CPPS/PNUMA/COI sobre bioensayos y pruebas de toxicidad en organismos marinos del pacífico sudeste, Cartagena, Colombia, 1988.
- EPA., Recommended WaterQuality Criteria. Environment Protection Authority, Victoria, Publication 165.1983. Marine Pollution Bulletin vol. 25, No 5-8,1992. P. 209.
- FAO, 1981. Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 4a. Base para la elección de ensayos biológicos para evaluar la contaminación marina. FAO, Doc. Téc. Pesca, (164): 34 p. Curso regional CPPS/PNUMA/COI sobre bioensayos y pruebas de toxicidad para evaluar el efecto de la contaminación sobre organismos marinos en el pacífico sudeste. Cartagena. 1988.
- MARGALEF, R. 1982. Ecología, Ediciones Ornega, S.A. Barcelona, 1982, España. Pág. 806
- MOSQUERA, A. 1989= Biodegradabilidad y pruebas de toxicidad del crudo caño limón y su mezcla con el dispersante Numatrol 220 en dos especies acuáticas (P. schmitti. Burkrnroad : Oreochromis niloticus. Gunther). Tesis de grado. Universidad del valle.
- PRAHL, H. Von. Cultivo de camarones peneidos en la costa del pacífico colombiano. Estudio técnico y su impacto ecológico en la zona de tumaco. 1984.
- PRAHL, H.Von. CANTERA , J.R. , CONTRERAS , R. 1989. Estuarios, manglares y hombres del pacífico colombiano. FEN-COLCIENCIAS.
- DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN AMBIENTAL. Standars de calidad de aguas. Reg. 62 302. 1995
- TORRES, M. 1984. La Artemia. INDERENA. Cartagena. Coíombia. 24pp
- UNEP/ILO/WHO. GLIPHOSATE. Environmental Health Criteria 159, Geneva,.1994.
- ZAMBRANO, M.M, 1996. Pruebas de bioacumulación y toxicidad aguda de hidrocarburos aromáticos del petróleo en moluscos bivalvos (Anadara tuberculosa y Striostrea prismática). Tesis de grado. Universidad del valle.