

TOXICIDAD AGUDA Y BIOACUMULACIÓN DE DOS HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (NAFTALENO Y FLUORANTENO) EN UN MOLUSCO BIVALVO

Jorge Eliécer Prada-Ríos ¹
Mónica María Zambrano Ortiz ²

¹ Facultad de Biología, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia
e-mail: jepr83@hotmail.com

² Grupo de Protección del Medio Marino, Centro Control Contaminación del Pacífico (CCCP)
Vía El Morro, Capitanía de Puerto, San Andrés de Tumaco, Nariño, Colombia.
e-mail: monyazambrano@yahoo.com

Prada-Ríos, J. y M. Zambrano. 2006. Toxicidad aguda y bioacumulación de dos hidrocarburos aromáticos policíclicos (naftaleno y fluoranteno) en *Anadara tuberculosa*. Boletín Científico CCCP, (13): 53-64.

Recibido en mayo de 2006; aceptado en diciembre de 2006

RESUMEN

En el presente estudio se determinó la susceptibilidad del molusco bivalvo *Anadara tuberculosa* a dos hidrocarburos aromáticos policíclicos (naftaleno y fluoranteno), clasificados como contaminantes prioritarios por la Agencia de Protección Ambiental debido a su potencial genotóxico y cancerígeno. Se realizaron pruebas de toxicidad aguda, en las que se expuso esta especie a la acción de cada uno de estos compuestos durante 96 horas y posteriormente, partiendo de la información obtenida, se desarrollaron pruebas de bioacumulación por un período de 30 días. Las concentraciones letales (CL₅₀ 96h) equivalen a 8.66 ppm para la prueba realizada con naftaleno y de 113.47 ppm correspondiente al fluoranteno. El análisis de los niveles de bioacumulación permitió evaluar el ciclo de absorción, retención y excreción de estos hidrocarburos en los organismos, observándose valores que oscilaron entre 0.16 y 3.42 ppm para el naftaleno, mientras para el fluoranteno el rango de acumulación fue entre 194.77 y 1011.30 ppm. Estos resultados evidencian una mayor capacidad de concentración para el fluoranteno, relacionada con sus características fisicoquímicas y de toxicidad. La contaminación por hidrocarburos puede causar un serio impacto económico en las actividades costeras y afectar a las comunidades que explotan los recursos marinos y la acumulación de dichas sustancias en los organismos puede representar un potencial problema de salud pública.

PALABRAS CLAVE: *Anadara tuberculosa*, naftaleno, fluoranteno, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), toxicidad aguda, bioacumulación, genotóxico, cancerígeno.

ABSTRACT

In the present study was determined the susceptibility of the bivalve mollusk *Anadara tuberculosa*, to two polycyclic aromatic hydrocarbons (naphtalene and fluoranthene), high-priority pollutants of the Environmental Protection Agency (EPA) due to its genotoxic and cancerigenic potential. It carried out tests of acute toxicity, in the that this specie was exposed to the action of each one of these compounds during 96 hours and later on, starting from the obtained information, were developed bioaccumulation tests by a period of 30 days. The lethal concentrations (CL₅₀ 96h) equivalent to 8.66 ppm for the test carried out with naphtalene and of 113.47 ppm corresponding to the fluoranthene. The analysis of the bioaccumulation levels allowed to evaluate the cycle of absorption, retention and excretion of these hydrocarbons in the organisms, observing values that oscillated between 0.16 and 3.42 ppm for the naphtalene, while for the fluoranthene, the range of accumulation was between 194.77 and 1011.30 ppm. These results evidence a higher concentration capacity for the fluoranthene, related with their physiochemical characteristics and of toxicity. The contamination for hydrocarbons can cause a serious economic impact in the coastal activities and affect to the communities that exploit the marine resources and the accumulation of this substances in the organisms can represent a potential problem of public health.

KEY WORDS: *Anadara tuberculosa*, naphtalene, fluoranthene, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), acute toxicity, bioaccumulation, genotoxic, cancerigenic.

INTRODUCCIÓN

En el ambiente acuático la mayor parte de las sustancias químicas antropogénicas y materiales de desecho, incluyendo sustancias tóxicas orgánicas e inorgánicas, contribuyen a la degradación medioambiental (César *et al.*, 2002). Uno de los principales y más conocidos tipos de contaminación es el ocasionado por los hidrocarburos del petróleo, el cual puede afectar aguas, sedimentos y organismos. La contaminación por hidrocarburos puede causar un serio impacto económico en las actividades costeras y afectar a las comunidades que explotan los recursos marinos (Law, 1986)

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAP, son unos de los más comunes contaminantes orgánicos persistentes presentes en ambientes acuáticos, incluyendo estuarios (Means, 1998). La mayor importancia ambiental de estos compuestos reside especialmente en que se les atribuyen propiedades carcinogénicas y mutagénicas (Grimmer, 1993). Los HAP se consideran contaminantes persistentes de origen antrópico, con efectos biológicos a largo plazo. Debido a su naturaleza hidrofóbica, las concentraciones en agua de mar son muy bajas, lo que permite que se absorban fácilmente sobre la materia particulada y finalmente se precipiten hacia el sedimento (Casanova *et al.*, 2001)

El naftaleno y fluoranteno se encuentran incluidos dentro de la lista de HAP prioritarios de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, EPA (por sus siglas en inglés); a estos compuestos se les atribuye un potencial genotóxico y cancerígeno de acuerdo con los estudios realizados por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer, IARC. Según el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo de España, INST, el fluoranteno se cataloga como mutagénico y teratogénico, y la exposición a éste representa un grave problema de salud pública (Agencia Española de Seguridad Alimentaria, 2002). Tras el accidente del buque petrolero 'Prestige', el 13 de noviembre de 2002, y luego de una serie de investigaciones se ha descrito que el naftaleno y fluoranteno (presentes en el fuel derramado) producen efectos embriotóxicos en los animales (Baert, 2002)

Las partículas de estos contaminantes asociadas al sedimento, están disponibles para la biota y son bioacumuladas en los tejidos lipídicos de los organismos (Pereira *et al.*, 1992), siendo

de gran importancia el hecho que entre los procesos determinantes de la permanencia de estos compuestos en el medio se encuentre la captación por parte de organismos vivos; ya que no sólo los incorporan, sino que a su vez permiten que pasen por muchos miembros de la cadena trófica marina sin alterarse, presentando adicionalmente una amplificación a la que están sujetos, siendo esta situación análoga a la presentada por los metales pesados y los plaguicidas (Stoker y Seager, 1981)

Los organismos bentónicos retienen con gran facilidad este tipo de compuestos y su escasa o nula movilidad trae consigo una gran incapacidad para evitar condiciones dañinas o adversas, en comparación con organismos móviles; por tal razón, actúan como integradores de los efectos de varios niveles de contaminantes, siendo estas características las que hacen a este grupo ideal como organismos centinelas o biomonitores para evaluar la calidad del medio (Freire y Labarta, 2003). Crustáceos, peces y moluscos expuestos a contaminación por petróleo, pueden adquirir un sabor aceitoso, asociado con la presencia de compuestos volátiles derivados del petróleo, productos refinados y dispersantes (Singh *et al.*, 1992)

La especie objeto de este estudio es la piangua (*Anadara tuberculosa*), el molusco bivalvo más explotado en la costa del Pacífico colombiano, de gran demanda en el comercio local y exterior, con una explotación de 1500 toneladas anuales de carne en los manglares colombianos durante la década del setenta (Álvarez-León y Bravo- Pazmiño, 1998; Betancourt y Cantera, 1976) y un total de 3283 toneladas en el 2004 (INCODER, 2005) (Figura 1)

La realización de ensayos de toxicidad no sólo resulta adecuada en la determinación de la toxicidad de compuestos antropogénicos, sino que también proporciona información concerniente al impacto potencial de contaminantes en el medio marino. Además, permite comparar la toxicidad de diferentes compuestos, conocer la sensibilidad de la especie y determinar los mecanismos de los efectos de las sustancias ensayadas (Alcázar, 1988). La vigilancia ecotoxicológica requiere de una medición de diferentes parámetros de bioevaluación, tomados en cantidad suficiente para que logren extraer conclusiones sólidas a través de un análisis estadístico correcto. Éstos, combinados adecuadamente, permiten una evaluación integral de la situación ambiental (Carballeira, 2003)

El presente trabajo se enfocó en la determinación de las concentraciones letales y el grado de bioacumulación del naftaleno y fluoranteno sobre un organismo centinela, la especie *A. tuberculosa*, de gran importancia ecológica y comercial para la región del Pacífico colombiano.

MATERIALES Y MÉTODOS

La colecta de especímenes se realizó manualmente, extrayéndolas entre las raíces de mangle rojo (*Rhizophora mangle*), pues es allí donde se encuentran habitualmente enterradas o semienterradas en la zona mesolitoral media e inferior. Esta fase de recolección se efectuó durante marea baja para facilitar esta labor, cuando los planos lodosos quedan al descubierto y permiten realizar la colecta de diversas especies asociadas al manglar.

Preparación de las soluciones de ensayo

Las disoluciones de los tóxicos se prepararon utilizando acetona como solvente, de tal manera que se pudieran añadir en solución al agua de ensayo en las cantidades requeridas para obtener las diferentes concentraciones. Se realizaron pruebas previas de estabilidad de una concentración en el tiempo (0, 6, 12 y 24 horas) de las diferentes soluciones bajo condiciones ambientales, de acuerdo a la metodología de Análisis de Hidrocarburos Disueltos y Dispersos en Aguas (CARIPOL, 1980)

A partir de estos resultados se procedió a desarrollar ensayos tipo semiestáticos, con recambios totales de agua cada 24 horas; con el fin de mantener estables las condiciones fisicoquímicas, especialmente la concentración del oxígeno disuelto como factor limitante. La reposición del compuesto perdido por volatilización se realizó adicionando un 50 % de solución cada 6 horas para naftaleno y una adición total de compuesto con cada recambio de agua para fluoranteno.

Prueba de toxicidad aguda CL_{50} 96h

Los organismos fueron aclimatados en el laboratorio al agua de disolución y a la temperatura de ensayo, cambiando gradualmente el agua del tanque de conservación hasta alcanzar un 100% del agua de disolución. Para las pruebas de

toxicidad aguda, se expusieron los organismos a concentraciones específicas de cada una de las sustancias de prueba. Para esto se utilizaron 21 recipientes de vidrio de 25.0 L de capacidad (aforados a 20.0 L), trabajando 6 concentraciones y un blanco o control, con sus respectivas réplicas (2 recipientes adicionales por concentración). Cada recipiente contó con 10 especímenes durante las pruebas realizadas.

Se registraron datos cada 24 horas en todos los recipientes de ensayo hasta el término de la prueba (96 horas), examinando y descartando los organismos muertos, definiéndose como criterio para esto la no reacción ante un estímulo táctil y además reconociendo cualquier comportamiento anormal que pudiera presentarse. Se midieron parámetros fisicoquímicos como: salinidad, pH, temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg/L) y conductividad eléctrica ($\mu S/cm$), verificándolos periódicamente desde las primeras horas de iniciados los experimentos hasta la finalización de los mismos.

La metodología utilizada para estos ensayos se encuentra referenciada en el Manual de Métodos de Investigación del Medio Ambiente Acuático, dentro del 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 (FAO, 1988)

La información obtenida de la mortalidad registrada en cada concentración para calcular el valor de CL_{50} se realizó siguiendo el método Probit de Bliss (Stora, 1988). Este método tiene una variación lineal de los probits de mortalidad en función del logaritmo de las concentraciones. El método tiende a minimizar los extremos y a maximizar las observaciones alrededor de las concentraciones medias. Para cada serie de datos se calculó la CL_{50} y sus límites de confianza del 95%, con base en la medida de las concentraciones iniciales del material de ensayo, aceptando la homogeneidad de la respuesta de acuerdo a la prueba de hipótesis Chi^2 utilizada para determinar la asociación entre la concentración del tóxico y la respuesta en unidades Probit (Chi^2 tabulado mayor que Chi^2 calculado). Para la ejecución del método se empleó el programa de aplicación estadístico PROBIT versión 1.5, desarrollado por la EPA.

Prueba de bioacumulación

Esta prueba se desarrolló exponiendo un grupo de organismos a una solución con una concentración de 0.10 ppm para cada uno de los tóxicos de ensayo, conservando su disponibilidad a lo largo del experimento. El análisis de la concentración de hidrocarburos en los organismos se realizó con una periodicidad de cinco días, durante un mes, con diez organismos por análisis.

Análisis químico para la determinación de la concentración bioacumulada

El procedimiento analítico se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita en el Manual para la Vigilancia de la Contaminación por Petróleo (CARIPOL, 1980) y en los Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales (APHA, AWWA y WPCF, 1992)

El análisis de las muestras comenzó con la separación de las valvas, luego de lavar y retirar residuos de sedimento que puedan contener, para extraer el tejido blando de estas. Posteriormente se homogenizó una cantidad de muestra conocida (+/-10.0 g), y se adicionaron 25.0 mL de KOH 6N. En esta etapa de digestión se saponifican los compuestos grasos, variando de acuerdo a la uniformidad de la muestra.

Luego de completada la digestión se procedió a la extracción, adicionando 15.0 mL de éter etílico a la muestra y separando de esta forma en la fase orgánica los hidrocarburos; se repitió este proceso tres veces, con el fin de realizar una extracción completa de los compuestos. El extracto etéreo se concentró a una temperatura inferior a 30.0 °C en un rotaevaporador para su posterior limpieza y fraccionamiento por medio de cromatografía de columna con sílica gel (8.0 g) y alúmina (8.0 g) como adsorbentes, y cubriendo la parte superior con sulfato de sodio anhidro (aprox. 1.0 cm de altura), con el fin de retener la humedad que pueda contener la muestra.

Preparada la columna se sembró el extracto (0.5 mL) y se adicionaron 20.0 mL de hexano, obteniendo de esta forma la primera fracción que contiene los hidrocarburos alifáticos. Después se adicionaron 20.0 mL de una solución de diclorometano-hexano al 10%, obteniendo la segunda fracción que contiene hidrocarburos aromáticos

bencénicos y naftalénicos. Finalmente, se agregan 40.0 mL de una solución de diclorometano-hexano al 20 %, obteniendo los HAP. Una vez recogidas las fracciones, se concentraron para su análisis instrumental utilizando un equipo de cromatografía de gases (Agilent Technologies 6890N) acoplado a un detector selectivo de masas (MSD - 7683B Series) y aplicando el método SIM (Modo Ion Selectivo) PAHSSIM3 establecido por la EPA para la cuantificación de los 16 HAP prioritarios.

RESULTADOS

Toxicidad aguda CL_{50} de naftaleno

En este ensayo se manejó un rango de seis concentraciones entre 6.00 ppm y 11.00 ppm. Para efectos del cálculo de la CL_{50} de este compuesto se desarrolló el análisis de la información teniendo en cuenta solamente el rango comprendido entre 7.00 ppm y 11.00 ppm, debido a la aparición de mortalidad únicamente en estas concentraciones, permitiendo de esta forma una mayor sensibilidad del método de procesamiento estadístico.

El valor obtenido de la CL_{50} a 96 horas para este ensayo fue de 8.66 ppm (Tabla I), observándose para esta prueba una curva de relación dosis-respuesta creciente con tendencia a estabilizarse en su punto más alto (Figura 2). Los organismos blanco presentaron un porcentaje de sobrevivencia del 100% en condiciones de laboratorio durante el tiempo del ensayo, incluyendo el blanco con solvente (acetona), empleado para conocer la acción de éste sobre los organismos bajo condiciones experimentales y descartando cualquier efecto adverso que pudiera producir sobre la respuesta. La prueba de hipótesis (χ^2 tabulado mayor que χ^2 calculado equivalente a $7.815 > 1.834$), demostró un correcto ajuste de la recta con un intervalo de confianza del 95 %, aceptando que el modelo utilizado para los datos de la línea de regresión obtenidos a partir de los registros de mortalidad y de los logaritmos es el apropiado.

Toxicidad aguda CL_{50} de fluoranteno

El ensayo con fluoranteno se diseñó con un rango de seis concentraciones en orden progresivo entre 65.00 y 115.00 ppm realizándose, al igual que con el naftaleno, por triplicado (con sus respectivos

controles), a fin de determinar el límite de confianza en el cálculo del valor de dosis media letal para esta sustancia.

En esta prueba el valor obtenido para la CL_{50} a 96 horas es de 113.47 ppm (Tabla II), observándose en este ensayo una curva sigmoidea normalizada que representa la relación logarítmica de la concentración frente al porcentaje de mortalidad que, al igual que la prueba anterior, presenta cierta tendencia a estabilizarse a medida que aumenta su comportamiento positivo (Figura 3). Los organismos blanco presentaron un porcentaje de sobrevivencia del 100 % en condiciones experimentales durante el tiempo del ensayo, incluyendo los organismos del blanco con solvente. La prueba de hipótesis demostró un ajuste adecuado de la recta para esta prueba, obteniéndose un χ^2 tabulado mayor que χ^2 calculado ($9.488 > 0.986$), con una significación estadística del 95 % conforme al análisis Probit.

Bioacumulación de naftaleno en *A. tuberculosa*

Las concentraciones de naftaleno en los tejidos de los organismos expuestos durante el ensayo de bioacumulación fueron bastantes variables, oscilando entre 0.16ppm, registrado para el día 20 y de 3.42ppm para el día 15. Estos organismos presentaron una concentración inicial de 1.04 ppm, siendo éste el punto de partida del estudio de la dinámica del compuesto en el organismo durante este período de tiempo (30 días), más no puede considerarse como la concentración original del organismo en condiciones naturales, ya que éste fue sometido a un proceso de aclimatación en el laboratorio, en el cual pudo haberse producido un proceso de depuración ajeno a las condiciones de ensayo.

Los resultados del análisis estimativo de naftaleno en *A. tuberculosa* evidencian un comportamiento caracterizado por períodos de ascenso y descenso, correspondientes a la acumulación y depuración del organismo, con tendencia a presentar un aumento de la concentración en el tiempo (Figura 4)

Bioacumulación de fluoranteno en *A. tuberculosa*

Las concentraciones de fluoranteno presentadas en el desarrollo del ensayo de bioacumulación mostraron una variación entre

5.88 ppm, registrado para el día 0 y 1011.30 ppm para el día 25. El comportamiento temporal de las concentraciones de fluoranteno en *A. tuberculosa* muestra un período de absorción, retención y depuración del compuesto durante el desarrollo del experimento. La fase inicial de acumulación del fluoranteno comienza sobre el valor del medio, siendo este comportamiento positivo hasta el día 25, iniciándose a partir de ese momento la fase de eliminación del compuesto por parte de los organismos (Figura 5)

Niveles de calidad permisibles de naftaleno y fluoranteno para *A. tuberculosa*

A partir de la información obtenida se puede estimar de manera preliminar un posible nivel permisible para los compuestos de ensayo. Para el naftaleno el cálculo se realizó utilizando el valor de CL_{50} obtenido a 96 horas (8.66ppm) multiplicado por un factor de aplicación de 0.001, obteniendo de esta forma una concentración admisible de 8.66×10^{-3} ppm para esta especie. El valor admisible de 0.11ppm obtenido para el fluoranteno en *A. tuberculosa* se desarrolló empleando el mismo factor de aplicación, teniendo en cuenta que, aunque este compuesto presenta una menor toxicidad aguda, su acumulación en los tejidos de los organismos es mayor al igual que su estabilidad en el agua; por tanto, su disponibilidad en el ambiente representa potencialmente un riesgo para las especies expuestas (Tabla III)

DISCUSIÓN

El incremento de las concentraciones de sustancias tóxicas en la biota y su acumulación a lo largo de las cadenas tróficas, reportadas para muchas áreas costeras, son señales de la degradación natural ambiental actualmente en progreso (Baumard *et al.*, 1998 En: Potrykus *et al.*, 2003). La descarga de contaminantes correspondientes a las actividades antropogénicas es una de las situaciones más difíciles que afrontan las poblaciones costeras, debido a las diferentes fuentes de entrada de hidrocarburos.

La exposición de los ecosistemas a hidrocarburos tras un derrame de petróleo, causa una serie de daños ambientales (agudos y crónicos) de tal forma que no es suficiente detectar la presencia de contaminantes en el medio y en los organismos; además, es necesario comprobar los

efectos provocados a todos los niveles, para poder evaluar el daño real causado y el tiempo que se necesita para su rehabilitación (Carballeira, 2003).

Los ensayos de toxicidad aguda realizados en este estudio mostraron que *Anadara tuberculosa* presenta una CL_{50} a 96 horas para el naftaleno (8.66 ppm), menor que la presentada por la misma especie y en iguales condiciones para el fluoranteno (113.47 ppm). La respuesta de la interacción entre la sustancia de ensayo y los organismos demuestra una mayor sensibilidad o susceptibilidad de la especie con el naftaleno, relacionada directamente con su toxicidad. Los datos correspondientes a la línea de regresión obtenidos a partir de los registros de mortalidad y los logaritmos de las concentraciones, demostraron un alto ajuste del modelo PROBIT para las rectas, según la prueba de hipótesis utilizada para establecer la asociación entre la concentración de las sustancias tóxicas y las unidades Probit, aceptando la homogeneidad de la respuesta en la población expuesta a la sustancia de ensayo con un intervalo de confianza del 95 %.

El proceso de bioacumulación se asocia principalmente a la gran afinidad existente entre el contenido de grasas y los hidrocarburos, que son químicamente hidrófobos, y la distribución que presentan en los diferentes tejidos. Estas características hacen que una vez absorbidos por los organismos su eliminación sea dificultosa, favoreciendo de este modo su retención en órganos de almacenamiento; lo cual sumado al hecho de que los moluscos bivalvos son incapaces de detoxificar estos compuestos y por tanto su excreción puede ser lenta, aumentando en cierto grado la eficacia del proceso bioacumulativo. Como consecuencia de la hidrofobicidad característica de los HAP, la cual aumenta directamente con el peso molecular y el número de anillos, la incorporación y solubilidad de estos en tejidos grasos depende principalmente de la interacción fisicoquímica existente (Freire y Labarta, 2003)

Calero y Zambrano (1997) registraron valores de hidrocarburos aromáticos totales, HAT, concentrados en *A. tuberculosa*, que fluctuaron entre 2.47 y 155.11ppm, durante una prueba de bioacumulación con ACPM-Dispersante (Super All # 38). Asimismo, Botello *et al.* (2002) determinaron valores de 0.75 y 6.91ppm de HAP en los tejidos blandos de las ostras *Crassostrea gigas* y *C.*

iridescens, respectivamente, colectadas en la zona costera del Pacífico mexicano. Estos datos reportados se encuentran muy por debajo de los encontrados en este estudio, lo que demuestra que los niveles de naftaleno y fluoranteno en los organismos de la especie *A. tuberculosa* son elevados, pese a las bajas concentraciones presentes en el medio.

El naftaleno presenta un peso molecular de 128.2 y dos anillos en su estructura química, al ser relativamente más ligero que el fluoranteno (202.26 y cuatro anillos) es incorporado dentro del organismo en menor cantidad, detectándose concentraciones que oscilaron entre 0.16 ppm, registrado para el día 20 y de 3.42 ppm para el día 15 del ensayo, coincidiendo con lo reportado por Porte y Albaigés (1993), quienes determinaron que los moluscos bivalvos preferencialmente bioacumulan HAP de cuatro, cinco y seis anillos, mas que HAP de dos y tres anillos. Esta bioconcentración ocurrida en un grado moderado para el naftaleno, permite que la depuración y el metabolismo procedan rápidamente en estos organismos, considerándose éste como un problema de corto plazo (Irwin *et al.*, 1997)

El fluoranteno presentó altos niveles de bioacumulación con concentraciones que variaron entre 5.88 ppm, registrado para el día 0 y de 1011.30 ppm para el día 25. Dentro de su grupo el fluoranteno se considera un hidrocarburo pesado, lo cual lo convierte en un compuesto de alta persistencia en el medio y comparado con otros HAP tiende a ser un gran carcinogénico con un impacto potencial crónico (Irwin *et al.*, 1997). El proceso de bioacumulación de fluoranteno por parte de *A. tuberculosa* se encuentra facilitado por la menor toxicidad de este compuesto, lo que favorece de esta forma una exposición mayor entre la sustancia contaminante y los organismos de ensayo.

Los resultados obtenidos muestran que estos organismos son realmente tolerantes a la presencia de compuestos con una gran toxicidad como lo son los hidrocarburos aromáticos. La dinámica mostrada dentro del proceso de bioacumulación del naftaleno en los organismos de *A. tuberculosa* evidencia una tendencia cíclica con períodos de absorción, retención y depuración de corta duración, los cuales incluso alcanzan valores cercanos a la concentración del medio tal como se evidenció en la muestra correspondiente al día 20. Es probable que la conducta de este compuesto se deba a su bajo peso molecular, el cual le concede una mayor

movilidad en comparación con otros compuestos de su familia y le permite al organismo la realización de varios ciclos absorción-depuración, con tiempos mínimos de retención en un periodo determinado, incluso en condiciones del medio adversas.

La comparación acumulativa del fluoranteno en *A. tuberculosa* exhibió un ciclo de absorción, retención y depuración de la sustancia de ensayo. En este período de acumulación se observa una fase inicial de absorción que comienza por encima de la concentración presente en el medio, hasta una etapa de eliminación parcial del compuesto en el organismo. El fluoranteno, debido a su mayor estabilidad con respecto al naftaleno, posee una menor actividad metabólica dentro del organismo que permite observar comparativamente un ciclo más lento con una mayor retención.

En general, los bivalvos sometidos a la acción de un agente contaminante y de un medio adverso tienen un poder de aislamiento relacionado con la actividad valvar de los organismos expuestos, el cual los protege durante algunos días (Michel, 1980). Esta característica biológica, presente en este grupo de organismos, debe ser tomada en cuenta para la realización de diferentes estudios que involucren la relación entre un molusco bivalvo y una sustancia tóxica presente en el medio, permitiéndoles actuar como biomonitores en el momento de evaluar contaminantes.

Se propusieron posibles niveles permisibles de estos compuestos para *A. tuberculosa* en el medio acuático, empleando un factor de aplicación correlacionado con las propiedades de bioacumulabilidad y toxicidad potencial. Estos valores admisibles son válidos como factor de seguridad sólo para esta especie, mas no pueden considerarse o utilizarse como posibles umbrales subletales en una comunidad acuática, esto debido a la alta resistencia y tolerancia de esta especie en comparación con otras poblaciones animales presentes en el medio ambiente marino, por lo cual se estarían desestimando organismos que muestren una mayor sensibilidad a dichos compuestos. Estas concentraciones admisibles propuestas pretenden proteger a la especie *A. tuberculosa* en relación con su importancia como recurso comercial acuícola e intentan aportar datos que puedan ser tenidos en cuenta por la legislación nacional vigente, la cual carece de algún tipo de normatividad referente a este nivel de información.

CONCLUSIONES

- El molusco bivalvo *A. tuberculosa* presentó una CL_{50} a 96 horas para el naftaleno menor que la obtenida en iguales condiciones para el fluoranteno. Esta relación entre las dos sustancias demuestra una mayor sensibilidad o susceptibilidad de la especie con el naftaleno relacionada directamente con la toxicidad de este compuesto.

- El elevado nivel de bioacumulación del fluoranteno comparado con el presentado por el naftaleno, evidencia la enorme capacidad y habilidad química de incorporación en tejidos de un HAP de alto peso molecular, como lo es el fluoranteno, relacionado con el naftaleno de bajo peso molecular. Este proceso se encuentra favorecido por la menor toxicidad del compuesto, lo que propicia una exposición prolongada al contaminante, además de su persistencia en el medio y su mayor disponibilidad.

- El proceso de bioacumulación del naftaleno en los tejidos de *A. tuberculosa* permite observar ciclos de absorción, retención y depuración de corta duración, con tiempos mínimos de retención en un periodo determinado.

- El comportamiento acumulativo del fluoranteno en *A. tuberculosa* presentó un periodo de absorción y retención relativamente lento, debido a su menor actividad metabólica. Este ciclo de acumulación muestra una fase inicial de absorción, comenzando por encima del valor proporcionado en el medio, hasta una etapa de eliminación parcial del compuesto en el organismo.

- A. tuberculosa* es una especie relativamente tolerante a niveles elevados de compuestos tóxicos como el naftaleno y fluoranteno, lo que demuestra que las poblaciones de estos organismos sólo se afectan de manera letal cuando estas altas concentraciones permanecen durante exposiciones prolongadas. Sin embargo, una mayor disponibilidad a bajas concentraciones incrementará la tasa de acumulación en los organismos, conllevando incluso a una potencial incorporación de estas sustancias en la cadena trófica.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la directiva del CCCP por el apoyo al desarrollo de este trabajo y a todos los que de una u otra forma contribuyeron para el éxito de esta labor, en especial al personal del Área de Protección del Medio Marino (APOMM) del CCCP.

LITERATURA CITADA

Agencia Española de Seguridad Alimentaria. 2002. Repercusiones del vertido del Prestige en la seguridad alimentaria. [en-línea]. España: Ministerio de Sanidad y Consumo (Colección Informes Técnicos). [Citado mayo 6 de 2005]. Disponible desde Internet: <www.otvm.uvigo.es>.

Alcázar, F. 1988. Curso CPPS/PNUMA/COI/ sobre bioensayos y pruebas de toxicidad en organismos y poblaciones del Pacífico Sudeste. Cartagena, Colombia, pp. 1-14.

Álvarez-León, R. y H. Bravo-Pazmiño. 1998. Moluscos y crustáceos asociados a los manglares del Pacífico colombiano y aprovechados por las comunidades negras. En: MINAMBIENTE ACOFORE-OIMT. Proyecto conservación y manejo para el uso múltiple y el desarrollo de los manglares en Colombia. Informe técnico. Bogotá. (29), p.v.

APHA, AWWA y WPCF. 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Análisis automatizado de laboratorio. Hidrocarburos Polinucleares Aromáticos. American Public Health Association. American Water Works Association. Water Pollution Control Federation, Parte 6440 A.

Baert, A. 2002. Comentarios acerca de los riesgos que entraña la recogida del petróleo del Prestige y la limpieza de las aves, por si pudieran afectar al litoral francés, según los datos disponibles a 29 de noviembre de 2002. [en-línea]. [Citado septiembre 9 de 2005]. Disponible desde Internet: < www.fr/fr/prestige.es >.

Betancourt, J. y J. Cantera. 1976. Estudio ecológico y económico de la piangua. En: Memorias Seminario sobre el Océano Pacífico Sudamericano. Seminario sobre el Océano Pacífico Sudamericano, Cali, p.v.

Baumard, P., H. Budzinski, P. Arrigues, J. Sorbe, T. Burgeot, y J. Bellocq. 1998. Concentration of PAH (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediments and to trophic level. Marine Pollution Bulletin, (36), p. 951-960. En: Potrykus, J., A. Albalat, J. Pempkowiak y C. Porte. Content and pattern of organic pollutants (PAH, PCB and DDT) in Blue Mussels (*Mytilus trossulus*) from the Southern Baltic Sea. Oceanologia, (45): 337-355.

Botello, A., C. García-Ruelas y G. Ponce-

Vélez. 2002. PAH levels in bivalve mollusks from the Mexican Subtropical Pacific. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, (69): 486-493.

Calero, L. y M. Zambrano. 1997. Bioacumulación de hidrocarburos aromáticos del petróleo en un molusco bivalvo *Anadara tuberculosa*. Boletín Científico CCCP, (6): 131-137.

Carballeira, A. 2003. Consideraciones para el diseño de un programa de monitorización de los efectos biológicos del vertido del Prestige. Ciencias Marinas, (29): 123-139.

CARIPOL. 1980. Manual para la vigilancia de la contaminación por petróleo. IOCARIBE/ CARIPOL, Cartagena, pp. 12 - 22.

Casanova, R., J. Betancourt, y L. Castro. 2001. Evaluación de los niveles de hidrocarburos aromáticos en sedimentos marinos de la ensenada de Tumaco. Boletín Científico CCCP (8): 22-23.

César, A., L. Marín, R. Vita y otros. 2002. Sensibilidad de anfípodos y erizos del mar Mediterráneo a sustancias tóxicas de referencia. Ciencias Marinas, (28): 407 - 417.

FAO. 1988. Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 4ª. Base para la elección de ensayos biológicos para evaluar la contaminación marina. En: CPPS/PNUMA/COI. Memorias del 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. FAO, Cartagena, 134 pp.

Freire, J. y U. Labarta. 2003. El Prestige: impactos sobre los recursos y ecosistemas marinos. En: Fernández-Latorre, S. La Huella del Fuel. Ensayos sobre el Prestige. Ed. Fundación. Coruña, pp. 104-135.

Grimmer, G. 1993. Relevance of polycyclic aromatic hydrocarbons as environmental carcinogens. Polycyclic aromatic compounds synthesis, properties, analytical measurements occurrence and biological effects. Ed. Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam, 259 pp.

INCODER. 2005. Reporte de Explotación Acuícola 2004 (Bahía de Tumaco - Nariño). [CD-ROM]. San Andrés de Tumaco.

Irwin, R., M. Vanmouwerik, L. Stevens, M. Seese y W. Basham. 1997. Environmental contaminants encyclopedia. National Park Service, Water Resources Division. Distributed within the Federal Government as an Electronic Document,. (Projected public availability on the internet or NTIS: 1998). Fort Collins, Colorado, USA, pp. 6 - 19.

Law, R. 1986. Polycyclic aromatics hydrocarbons in the marine environment: an overview. Marine Pollution Bulletin, (31), 237 pp.

Means, J. 1998. Compound-specific gas chromatographic/mass spectrometric analysis of alkylated and parent polycyclic aromatic hydrocarbons in waters, sediments, and aquatic organisms. J. AOAC, (81): 657-672.

Michel, P. 1980. Polución por hidrocarburos. Interacción con la biocenosis. En: Pérez, J. La polución de las aguas marinas. Barcelona, 251 pp.

Pereira, W., F. Hostettler y J. Rapp. 1992.

Bioaccumulation of hydrocarbons derived from terrestrial and anthropogenic sources in the Asian Clam, *Potamocorbula amurensis*, in San Francisco Bay Estuary. Marine Pollution Bulletin, (24): 103-109.

Porte, C. y J. Albaigés. 1993. Bioaccumulation patterns of hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in bivalves, crustaceans, and shes. Arch. Environmental Contamination Toxicology, (26): 273-281.

Singh, J., I. Chang-Yen, V. Stoute y L. Chatergoon. 1992. Hydrocarbons level in edible fish, crabs and mussel from the marine environment of Trinidad. Marine Pollution Monitoring, (24): 270- 272.

Stoker, H. y L. Seager. 1981. Contaminación del aire y del agua. Química Ambiental. Ed. Blume , Barcelona, pp. 243-247.

Stora, G. 1988. Contribution a l'étude de la notion de concentration létale limite moyenne (CL_{50}) appliquée a des invertébrés marins. Etdue méthodologique. Tethys, pp. 597-644.

FIGURAS Y TABLAS

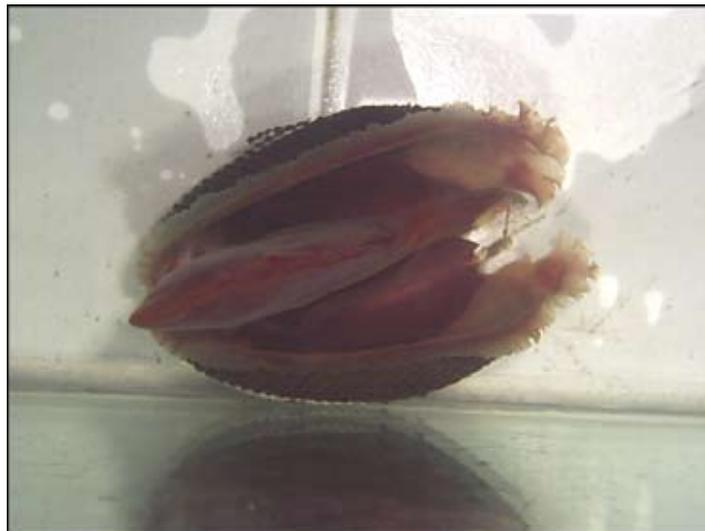


Figura 1. Especie en estudio piangua (*Anadara tuberculosa*).

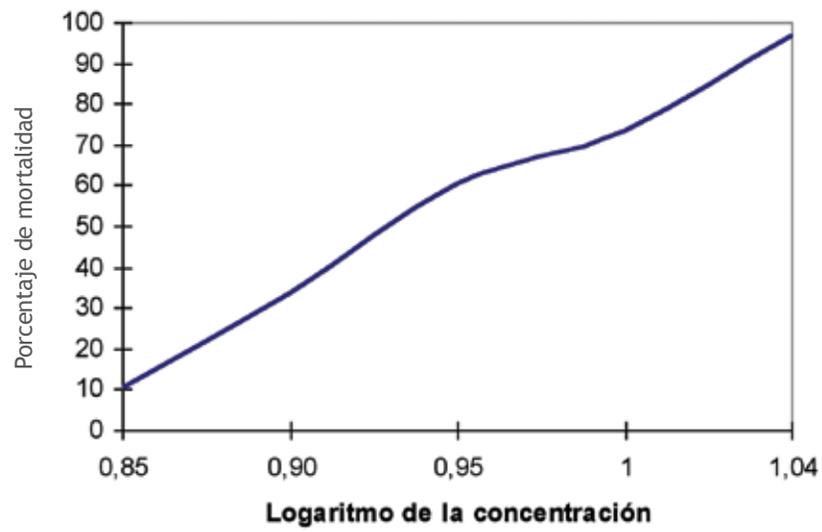


Figura 2. Dosis letal media para 96 horas de naftaleno en *A. tuberculosa*.

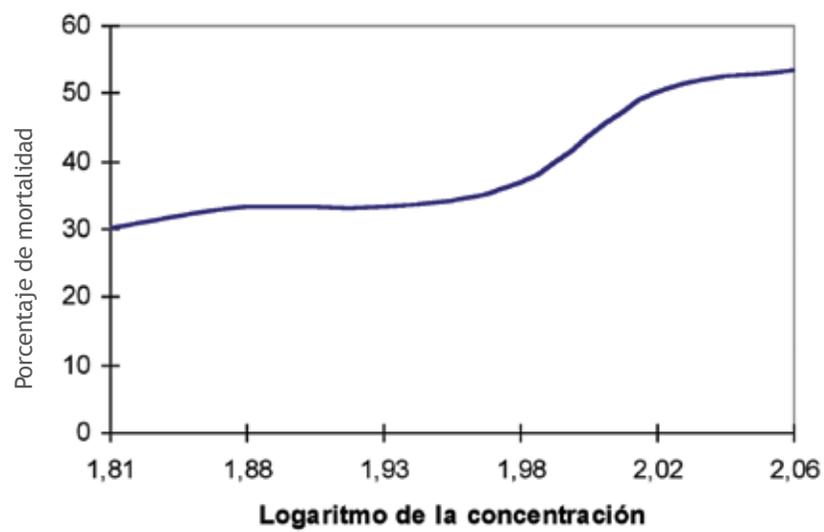


Figura 3. Dosis letal media para 96 horas de fluoranteno en *A. tuberculosa*.

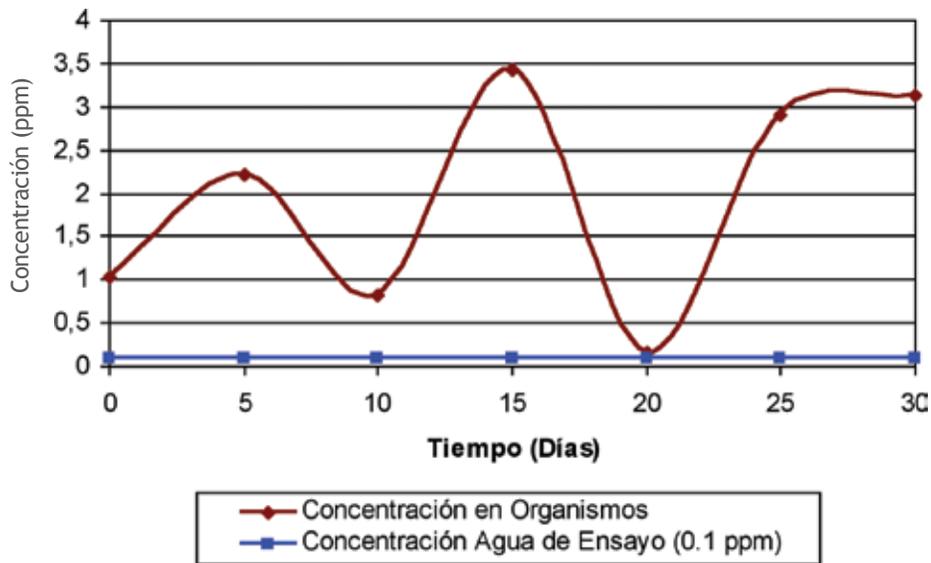


Figura 4. Comportamiento del naftaleno en *A. tuberculosa* durante la prueba de bioacumulación a 30 días (ppm / peso seco).

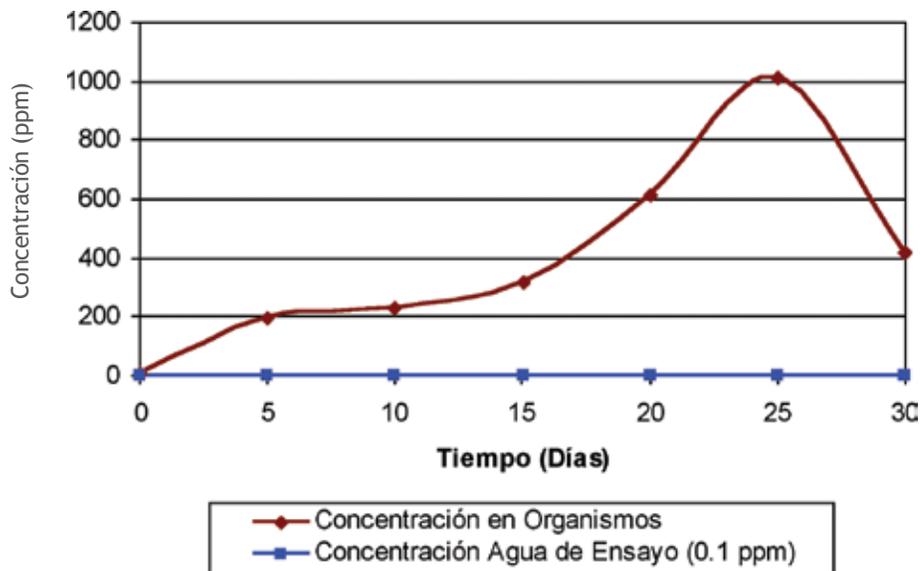


Figura 5. Comportamiento del fluoranteno en *A. tuberculosa* durante la prueba de bioacumulación a 30 días (ppm / peso seco)

Tabla I. Porcentaje de mortalidad y valor de CL_{50} para 96 horas de exposición de *A. tuberculosa* a naftaleno.

Concentración (ppm)	% Mortalidad
	96 Horas
7.00	10.00
8.00	33.33
9.00	60.00
10.00	73.33
11.00	96.66
CL_{50}	8.66 ppm

Tabla II. Porcentaje de mortalidad y valor de CL_{50} para 96 horas de exposición de *A. tuberculosa* a fluoranteno.

Concentración (ppm)	% Mortalidad
	96 Horas
65.00	30.00
75.00	33.33
85.00	33.33
95.00	36.66
105.00	50.00
115.00	53.33
CL_{50}	113.47 ppm

Tabla III. Concentraciones admisibles propuestas para naftaleno y fluoranteno en *A. tuberculosa*.

Compuesto	CL_{50} (96 horas de exposición)	Factor de aplicación	Niveles permisibles
Naftaleno	8.66 ppm	0.001	8.66×10^{-3} ppm
Fluoranteno	113.47 ppm		0.11 ppm