

## Efecto Ecotoxicológico de la Mezcla de Aroclor 1254 y Plomo en el Bioindicador *Daphnia magna*<sup>1</sup>

Carlos Nicolás Dellafredad Tesén<sup>2</sup>, José Alberto Iannacone<sup>3</sup>

### Resumen

**Introducción:** el bioensayo con la especie bioindicadora *Daphnia magna* Strauss, 1820 posibilita obtener el efecto ecotoxicológico agudo individual y en mezcla de diversos tóxicos químicos mediante la concentración letal media (CL<sub>50</sub>). **Objetivo:** determinar el efecto ecotoxicológico de la mezcla de aroclor 1254 y del plomo (Pb<sup>2+</sup>) sobre *D. magna*. **Materiales y Métodos:** se midió la CL<sub>50</sub> siendo aroclor 1254 > Pb<sup>2+</sup>, y ulteriormente la concentración sin efecto ecológico (PNEC) para el efecto individual y en mezcla. Se contrastaron los valores de PNEC con la categoría 4 – E1 (lagunas y lagos) y E2 (ríos) del Estándar de Calidad Ambiental Peruano (Decreto Supremo N° 004 2017-MINAM –Perú). **Resultados:** los valores

de CL<sub>50</sub> disminuyeron de forma gradual a 48 h de exposición para ambos compuestos en forma individual y en mezcla. Se calculó la proporción – sinergia (PS) en relaciones de 1:1, 3:2 y 4:1 (aroclor 1254: Pb<sup>2+</sup>), obteniéndose mayores valores de PS en 3:2 y 4:1 en contrastación a 1:1. **Conclusiones:** la concentración de aroclor 1254 estimada de PNEC es similar al valor de la conservación del ambiente acuático categoría 4 – E1 y E2, y la concentración máxima para Pb<sup>2+</sup> no es adecuada y debe reducirse para fortalecer la conservación de la biota acuática. Finalmente, el bioindicador *D. magna* determinó idóneamente la mezcla de aroclor 1254 y Pb<sup>2+</sup>.

**Palabras Clave:** Aroclor 1254, bioensayo, *Daphnia magna*, plomo.

1 Artículo original derivado del proyecto de investigación titulado "Efecto ecotoxicológico de la mezcla de aroclor 1254 y plomo en el bioindicador *Daphnia magna* Strauss, 1820", ejecutado entre noviembre 2018 y abril 2019 en Lima-Perú. Financiado por los autores.

2 Ingeniero Ambiental. Laboratorio de Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería ambiental. Universidad Científica del Sur. Lima, Perú. Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Correo electrónico: cdellafredad24@gmail.com / ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0359-3596>.

3 Biólogo, Doctor en Ciencias Biológicas, Docente-Investigador, Laboratorio de Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería ambiental. Universidad Científica del Sur. Lima, Perú. Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA) Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima, Perú. Correo electrónico: joseiannaconeoliver@gmail.com / ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3699-4732>.

**Autor para Correspondencia:** José Iannacone, E-mail: [joseiannaconeoliver@gmail.com](mailto:joseiannaconeoliver@gmail.com)

Recibido: 09/03/2021 Aceptado: 02/12/2021

\*Los autores declaran que no tienen conflicto de interés

## Ecotoxicological effect of the mixture of Aroclor 1254 and lead in the bioindicator

### *Daphnia magna*

#### Abstract

**Introduction:** the bioassay with the bioindicator species *Daphnia magna* Strauss, 1820 makes it possible to obtain the individual acute ecotoxicological effect and in a mixture of various chemical toxics by means of the mean lethal concentration (LC<sub>50</sub>). **Objective:** to determine the ecotoxicological effect of the mixture of aroclor 1254 and lead (Pb<sup>2+</sup>) on *D. magna*. **Materials and Methods:** LC<sub>50</sub> was measured with aroclor 1254 > Pb<sup>2+</sup>, and subsequently the concentration without ecological effect (PNEC) for the individual effect and as a mixture. PNEC values were contrasted with category 4-E1 (lagoons

and lakes) and E2 (rivers) of the Peruvian Environmental Quality Standard (Supreme Decree No. 004 2017-MINAM-Peru). **Results:** LC<sub>50</sub> values gradually decreased after 48 h of exposure for both compounds individually and as a mixture. The proportion-synergy (PS) was calculated in ratios of 1:1, 3:2 and 4:1 (arochlor 1254: Pb<sup>2+</sup>), obtaining higher PS values in 3:2 and 4:1 in contrast to 1:1. **Conclusions:** the PNEC estimated aroclor 1254 concentration is similar to the conservation value of the aquatic environment category 4-E1 and E2, and the maximum concentration for Pb<sup>2+</sup> is not adequate and should be reduced to strengthen the conservation of aquatic biota. Finally, the bioindicator *D. magna* ideally determined the mixture of aroclor 1254 and Pb<sup>2+</sup>.

**Keywords:** Aroclor 1254, bioassay, *Daphnia magna*, lead

## Efeito ecotoxicológico da mistura de aroclor 1254 e chumbo no bioindicador *Daphnia magna*

#### Resumo

**Introdução:** o bioensaio com as espécies bioindicadoras *Daphnia magna* Strauss, 1820 permite obter o efeito ecotoxicológico agudo individual e numa mistura de várias toxinas químicas por meio da concentração letal média (CL<sub>50</sub>). **Objetivo:** determinar o efeito ecotoxicológico da mistura de arocloro 1254 e chumbo (Pb<sup>2+</sup>) sobre *D. magna*. **Materiais e Métodos:** a CL<sub>50</sub> foi medida com arocloro 1254 > Pb<sup>2+</sup>, e posteriormente a concentração sem efeito ecológico (PNEC) para o efeito individual e como mistura. Os valores do PNEC foram contrastados com a categoria 4-E1 (lagoas e lagos) e E2 (rios) do Padrão de Qualidade

Ambiental Peruano (Decreto Supremo nº 004 2017-MINAM-Peru). **Resultados:** Os valores de LC<sub>50</sub> diminuíram gradualmente após 48 h de exposição para ambos os compostos individualmente e como uma mistura. A proporção-sinergia (PS) foi calculada em proporções de 1:1, 3:2 e 4:1 (arocloro 1254: Pb<sup>2+</sup>), obtendo-se valores de PS mais altos em 3:2 e 4:1 em contraste com 1:1. **Conclusões:** a concentração estimada de arocloro 1254 do PNEC é semelhante ao valor de conservação do ambiente aquático categoria 4-E1 e E2, e a concentração máxima de Pb<sup>2+</sup> não é adequada e deve ser reduzida para fortalecer a conservação da biota aquática. Finalmente, o bioindicador *D. magna* determinou idealmente a mistura de arocloro 1254 e Pb<sup>2+</sup>.

**Palavras-Chave:** Aroclor 1254, bioensaio, *Daphnia magna*, chumbo

## Introducción

Aroclor 1254 es parte de los 209 congéneres del grupo de bifenilos policlorados (Nakari & Huhtala, 2008). Este compuesto ocasiona diferentes tipos de afecciones en el ser humano como cáncer a la piel, efectos en el sistema reproductivo, sistema nervioso e incluso genera efectos teratogénicos (Sokol et al., 1992).

En cuanto al metal pesado, plomo ( $Pb^{2+}$ ), se emplea en diversos procesos industriales (Peñañiel & Iannacone, 2020; Rosas & Iannacone, 2020). En el Perú, existen varios casos de contaminación por este metal en los habitantes que se encuentran contiguos a industrias extractivas del  $Pb^{2+}$  (Bautista-Medina & Iannacone, 2020). En el río Cañete (Perú), se halló la presencia de aroclor 1254 y de  $Pb^{2+}$ , por lo que pudiera existir una interacción entre ambos compuestos (Ministerio de la Producción, 2010; Autoridad Nacional del Agua [ANA], 2014).

Aroclor 1254 y  $Pb^{2+}$  son considerados como disruptores endocrinos (EDC). Asimismo, el  $Pb^{2+}$  presenta un efecto adicional de estrés oxidativo en las especies acuáticas (Gaete et al., 2014).

Las sustancias químicas orgánicas e inorgánicas al encontrarse en mezclas en diferentes proporciones en el agua pueden ocasionar efectos tóxicos antagónicos y sinérgicos en la biota acuática (Iannacone et al., 2010; Escobar-Chávez et al., 2019).

El uso del bioindicador *D. magna*, genera información precisa del riesgo ecológico en el ambiente acuático (Iannacone et al., 2012; Zárate & Sierra, 2008). A la fecha no se tienen trabajos sobre bioindicadores acuáticos, y entre ellos, sobre el microcrustáceo *D. magna* que evalúen el riesgo ecológico de la mezcla de aroclor 1254 y del  $Pb^{2+}$ . Por lo que se requiere evaluar el riesgo ambiental del aroclor 1254

y del  $Pb^{2+}$ , a través de la concentración sin efecto ecológico (PNEC) para pronosticar la correspondencia entre estos contaminantes y sus impactos ecológicos.

Este trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar el efecto ecotoxicológico de la mezcla de aroclor 1254 y  $Pb^{2+}$  en el bioindicador *D. magna* y determinar si existe un efecto sinérgico de tres mezclas binarias de aroclor 1254 y  $Pb^{2+}$  (1:1, 3:2 y 4:1) sobre este modelo biológico.

## Materiales y Métodos

### *Daphnia magna*

Los neonatos fueron obtenidos a partir de hembras adultas de *D. magna* procedentes del acuario "Rokasd" ubicado en Lima, Perú. La aclimatización de las hembras partenogénicas se realizó a una temperatura de  $19 \pm 2$  °C, a un pH de  $7,0 \pm 1$  y a un fotoperiodo de 16 h luz: 8 h de oscuridad, en cinco contenedores de vidrio con las mismas dimensiones de 15 cm de largo, 30 cm de ancho y 15 cm de alto. El oxígeno disuelto (OD) fue mayor a  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (Iannacone et al., 2009). Los individuos se alimentaron diariamente con 2 ml de una mezcla de hojuelas de peces Tetramin® con *Spirulina* Turpin ex Gomont, 1892 y levadura en polvo en una proporción de 2:2:1, los cuales se disolvieron en 500 ml de agua embotellada de la marca "Cielo®". Para realizar el bioensayo de toxicidad aguda se usó neonatos menores a 24 h de nacidos. El ensayo tuvo una duración total de 48 horas de exposición. A cada recipiente de vidrio con capacidad de 100 ml, se adicionan 50 ml por cada concentración de aroclor 1254 y  $Pb^{2+}$  y sus respectivas mezclas, en cada recipiente se inoculó 10 neonatos *D. magna*. Como valoración de mortalidad se evaluó la falta de movimiento o la ausencia de latidos cardiacos a 15 s de análisis a los individuos a través del microscopio estereoscopio.

Previamente a cada análisis se realizó una oscilación breve al recipiente con el objeto de estimular la acción motora de los individuos expuestos de *D. magna*.

### Sustancias Químicas

El aroclor 1254 ( $C_{12}H_5Cl_5$ ,  $PM=326,4\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) fue obtenido de SUPELCO®, 99,5 % (Química Services SRL, Lima, Perú) CAS [Chemical Abstract Service Number] = 11097-69-1.

Se hizo una disolución para el efecto individual de aroclor 1254 y para la mezcla en proporción 1:1, con el disolvente diclorometano ( $CH_2Cl_2$ ,  $84,93\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), obtenido por EMSURE® ACS, 99,8 % (Implementos y Reactivos EIRL, Lima, Perú) CAS [Chemical Abstract Service Number] = 75-09-2. Este disolvente tiene una  $CL_{50-48h}$  para *D. magna* de  $220\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . La máxima concentración del diclorometano usado como disolvente para el aroclor 1254 fue de  $0,16\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , el cual fue menor que el valor de PNEC para *D. magna* que es de  $0,22\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Por lo que esta concentración de diclorometano no estaría ejerciendo efectos tóxicos en los bioensayos para el efecto individual de aroclor 1254 y para la mezcla en proporción 1:1 (De Rooij et al., 2004; Won et al., 2019). La disolución se realizó en base a una proporción de 1:1 de aroclor 1254 y de diclorometano, sobre 400 ml de agua embotellada. En cuanto a aroclor 1254, para el efecto individual de este compuesto y para la mezcla en proporción 1:1, se obtuvo una concentración inicial de  $0,16\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , para las proporciones 3:2 y 4:1,  $0,48$  y  $0,64\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente.

El Nitrato de plomo ( $Pb(NO_3)_2$ ,  $PM=331,2\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) fue adquirido de EMSURE® ACS, 99,5 % (Merck Peruana S.A., Lima, Perú) CAS [Chemical Abstract Service Number] = 10099-74-8. Para el ensayo definitivo se trabajó con un promedio de la  $CL_{50-24h}$  en *D. magna* de  $3,42\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , en cual se obtuvo a partir de diferentes ensayos encontrados en la literatura (Altindag

et al., 2008; Zárata & Sierra, 2008, Ona & Medina, 2015; Qin et al., 2014).

En cuanto al  $Pb^{2+}$ , para el efecto individual de este metal y para las mezclas en proporción 1:1, 4:1, se empleó  $8,74\text{ mg}$  de nitrato de plomo, mientras que para la mezcla en proporción 3:2, se usó  $17,49\text{ mg}$  de nitrato de plomo. Para pesar se utilizó una balanza AND modelo gr-2000, y se disolvió en 400 ml agua embotellada. Estos cálculos se hicieron a través de una relación entre el peso molecular del nitrato de plomo ( $331,2\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) y  $Pb^{2+}$  ( $207,2\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ).

Para los ensayos de toxicidad se aplicó un factor de solución de 0,5 para aroclor 1254 y  $Pb^{2+}$ ; en cuanto a las disoluciones y el control se usó agua embotellada con las subsiguientes propiedades fisicoquímicas:  $pH=7,37 \pm 0,01$ ;  $CE=0,66 \pm 2\%$  del margen de medición ( $dS\cdot\text{cm}^{-3}$ ), temperatura =  $23,7 \pm 0,1^\circ\text{C}$  y sólidos disueltos totales (TDS) =  $25 \pm 2\%$  del margen de medición ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), medidas puntuales con el instrumento de medición digital HandyLab 680.

### Diseño Experimental

Para *D. magna* se empleó aroclor 1254 en las siguientes cinco concentraciones nominales  $0,01$ ;  $0,02$ ;  $0,04$ ;  $0,08$ ;  $0,16\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y un control. Se usó  $Pb^{2+}$  en base al nitrato de plomo en las siguientes seis concentraciones nominales:  $0,42$ ;  $0,85$ ;  $1,71$ ;  $3,42$ ;  $6,84$  y  $13,68\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y un control. Adicionalmente, se realizaron mezclas binarias de concentraciones nominales en referencia a aroclor 1254, en proporción 1 (aroclor 1254):1 ( $Pb^{2+}$ ),  $0,01 + 0,855$ ;  $0,02 + 1,71$ ;  $0,04 + 3,42$ ;  $0,08 + 6,84$ ;  $0,16 + 13,68\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y un control, en proporción 3 (aroclor 1254): 2 ( $Pb^{2+}$ ),  $0,03 + 1,71$ ;  $0,06 + 3,42$ ;  $0,12 + 6,84$ ;  $0,24 + 13,68$ ;  $0,48 + 27,36\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y un control, en proporción 4 (aroclor 1254): 1 ( $Pb^{2+}$ ),  $0,04 + 0,85$ ;  $0,08 + 1,71$ ;  $0,16 + 3,42$ ;  $0,32 + 6,84$ ;  $0,64 + 13,68\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y un control (Gaete y Chávez, 2007). Se tomó como criterio para la legalidad del bioensayo que la mortalidad en el control no excediera el 10 %. Los ensayos fueron ejecutados en un diseño de

bloque completamente aleatorio (DBCA) de 5 (aroclor 1254) – 6 ( $\text{Pb}^{2+}$ ) (concentraciones) x 4 (repeticiones) (Iannacone et al., 2009).

### Tratamiento de datos

Las  $\text{CL}_{50s}$ ,  $\text{CL}_{50}^-$  inferior y  $\text{CL}_{50}^-$  superior se determinaron por medio del programa computarizado Excel Probit versión 2016 proporcionado por Alpha (2017). Se usó el estadístico Chi-cuadrado con el fin de verificar la validez del modelo de regresión. Se manejó el programa estadístico SPSS, versión 22 para Windows XP, para definir los estadísticos descriptivos e inferenciales a una significancia de 0,05. Se calculó a través de un análisis de varianza (ANOVA) de doble vía con un análisis complementario de Tukey, los porcentajes de mortalidad, temperatura y pH que fueron significativamente distintos a las del control. Se determinaron los valores de NOEC (Concentración de efecto no observado) y LOEC (Mínima concentración de observación de efecto). Para estimar la homogeneidad de varianzas se usó el estadístico de Levene, y para contrastar la normalidad de los diferentes datos se utilizó la prueba de Shapiro – Wilk (S-W). En el caso de que el ANOVA no cumpliera los requisitos de homogeneidad de varianzas y normalidad, se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal – Wallis (K-W).

### Evaluación del Riesgo Ambiental (ERA)

Se evaluó el riesgo ambiental del aroclor 1254 y  $\text{Pb}^{2+}$  sobre la comunidad biótica acuática, empleando a *D. magna*, a través de la estimación del PNEC para cada valor individual y de mezcla (Tomaila & Iannacone, 2018), a través de la siguiente fórmula:  $\text{CL}_{50}^-_{48h} / \text{Factor de seguridad}$ . Según OECD (2011), se usó un factor de aplicación de 1000, debido a que solo se contó con un solo nivel trófico en el medio acuático al que pertenece *D. magna*. Los PNEC obtenidos para el efecto agudo a las 48 h de aroclor 1254 y  $\text{Pb}^{2+}$  en forma individual y en mezcla fueron comparados con la categoría 4: Conservación del ambiente acuático del Estándar de Calidad Ambiental (ECA) para agua, subcategoría E1 (lagunas y lagos) y E2: Ríos (costa y sierra, selva); para bifenilos policlorados ( $0,000014 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) y  $\text{Pb}^{2+}$  ( $0,0025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM).

### Proporción – Sinergia (PS)

Se tomó el modelo proporción – sinergia de Hewlett & Plackett (1959), a través de la siguiente fórmula para la efecto aditivo, sinérgico o antagónico para aroclor 1254 y  $\text{Pb}^{2+}$ .

$$\text{PS} = \frac{\text{CL}_{50-48h} \text{ del químico actuando individualmente}}{\text{CL}_{50-48h} \text{ de la mezcla}}$$

PS = 1 indica efecto aditivo, PS > 1 muestra sinergia y PS < 1 señala el antagonismo

## Resultados

Los resultados de los parámetros fisicoquímicos como pH ( $7,29 \pm 0,04$  a  $7,39 \pm 0,05$ ) y temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) ( $23,25 \pm 0,10$  a  $23,85 \pm 0,41$ ) medidos durante las 24 h y 48 h de exposición a las cinco concentraciones de

aroclor 1254 sobre *D. magna* no mostraron diferencias significativas (pH: F = 0,77-1,97; sig = 0,13-0,58; temperatura: F = 2,76-7,75; sig = 0,05-0,17).

Los resultados de pH ( $6,83 \pm 0,06$  a  $7,39 \pm 0,13$ ) medidos durante la exposición de  $\text{Pb}^{2+}$  desde las 24 h hasta las 48 h sobre *D. magna*,

no mostró diferencias a las 24 h de exposición (K-W = 5,28; sig = 0,50), pero sí a las 48 h de exposición (F = 63,58; sig = 0,00), observándose una disminución del pH desde  $3,42 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de  $\text{Pb}^{+2}$ . Para la temperatura ( $23,28 \pm 0,39$  a  $23,70 \pm 0,24$ ) desde las 24 h hasta las 48 h sobre *D. magna* no se vieron diferencias significativas entre las concentraciones de  $\text{Pb}^{+2}$  (K-W = 1,51-3,44; sig = 0,75-0,95).

Los resultados de pH ( $6,83 \pm 0,06$  a  $7,38 \pm 0,05$ ) medidos durante la exposición de la mezcla en proporción 1:1 (aroclor 1254:  $\text{Pb}^{2+}$ ) desde las 24 h hasta las 48 h sobre *D. magna*, no mostraron diferencias a las 24 h (F = 1,46; sig = 0,24); en cambio se observaron diferencias a las 48 h desde la concentración de aroclor 1254 +  $\text{Pb}^{2+}$  ( $0,04+3,42$  en  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (K-W = 19,89; sig = 0,00). En el caso de la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) ( $23,33 \pm 0,09$  a  $23,78 \pm 0,12$ ) a las 24 h y 48 h se vieron diferencias con valores más bajos a las concentraciones de aroclor 1254 +  $\text{Pb}^{2+}$  ( $0,02 + 1,71$  y  $0,04+3,42$  en  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (F = 4,19-7,90; sig = 0,00-0,01).

Además, los resultados de pH ( $6,52 \pm 0,02$  a  $7,40 \pm 0,05$ ) medidos durante la exposición de la mezcla en proporción 3:2 (aroclor 1254:  $\text{Pb}^{2+}$ ) desde las 24 h hasta las 48 h sobre *D. magna*, evidenciaron diferencias entre las

concentraciones (K-W = 20,54-22,25; sig = 0,00), desde la concentración de aroclor 1254 +  $\text{Pb}^{2+}$  ( $0,48 + 27,36$  en  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Para la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) ( $22,25 \pm 0,12$  a  $23,35 \pm 0,12$ ), se observaron diferencias en la concentración de aroclor 1254 +  $\text{Pb}^{2+}$  ( $0,12 + 6,84$  en  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (K-W = 13,94-14,30; sig = 0,01).

Al analizar los resultados de pH ( $6,69 \pm 0,05$  a  $7,39 \pm 0,04$ ) medidos durante la exposición de la mezcla en proporción 4:1 (aroclor 1254:  $\text{Pb}^{2+}$ ) desde las 24 h hasta las 48 h, mostró diferencias desde la concentración de aroclor 1254 +  $\text{Pb}^{2+}$  ( $0,12 + 6,84$  en  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (24 h: F = 4,11; sig = 0,01 y 48 h: K-W = 20,50; sig = 0,00). En el caso de la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) ( $22,33 \pm 0,12$  a  $23,40 \pm 0,28$ ), se observaron diferencias en la concentración de aroclor 1254 +  $\text{Pb}^{2+}$  ( $0,04 + 0,85$  en  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (K-W = 11,88-15,23; sig = 0,00-0,03).

Adicionalmente, se determinó el efecto ecotoxicológico agudo del aroclor 1254 en *D. magna* a 24 y 48 h de exposición (Tabla N°1). Se verificó un incremento notable en el porcentaje de mortalidad de *D. magna* con respecto al control desde la concentración  $0,01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  hasta  $0,16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . La  $\text{CL}_{50}$  a 48 h de exposición fue 1,87 veces más tóxica que la  $\text{CL}_{50}$  a 24 h de exposición.

**Tabla N°1. Efecto individual de aroclor 1254 sobre *Daphnia magna* expuesta a 48 h de exposición**

Concentración ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	<i>Daphnia magna</i>	
	Efecto individual aroclor 1254 (% M)	
	24 h ( $\pm$ D.E.)	48 h ( $\pm$ D.E.)
0,0	0,00 ( $\pm$ 0,00) a	0,0 ( $\pm$ 0,00) a
0,01	32,50 ( $\pm$ 1,25) b	42,50 ( $\pm$ 1,25) b
0,02	42,50 ( $\pm$ 1,25) bc	60,00 ( $\pm$ 0,00) c
0,04	50,00 ( $\pm$ 0,00) c	65,00 ( $\pm$ 1,44) c
0,08	70,00 ( $\pm$ 2,04) d	75,00 ( $\pm$ 1,44) d

<i>Daphnia magna</i>		
Concentración (mg•L <sup>-1</sup> )	Efecto individual aroclor 1254 (% M)	
	24 h (± D.E.)	48 h (± D.E.)
0,16	80,00 (± 2,04) d	97,50 (± 1,25) e
CL <sub>50</sub>	0,030	0,016
CL <sub>50</sub> -inferior	0,014	0,009
CL <sub>50</sub> -superior	0,063	0,029
PNEC	0,00003	0,000016
NOEC	< 0,01	< 0,01
LOEC	0,01	0,01
K-W	106,25*	22,17
Sig.	0,00	0,00
Estadístico de Levene	1,64	10,40
Sig.	0,20	0,00
S-W	0,92	0,89
Sig.	0,08	0,01

Fuente: Elaborado por los autores

% M: % mortalidad. D.E.: Desviación Estándar. CL<sub>50</sub>: Concentración Letal donde el 50 % de los individuos expuestos mueren. CL<sub>50</sub>-inferior: Límite inferior de la CL<sub>50</sub>. CL<sub>50</sub>-superior: Límite superior de la CL<sub>50</sub>. PNEC: concentración sin efecto ecológico. NOEC: Concentración de efecto no observado. LOEC: Mínima concentración de observación de efecto. K-W: Prueba de Kruskal –Wallis. Estadístico de Levene: Prueba para evaluar la homogeneidad de varianzas. S-W: Prueba de Shapiro–Wilks para evaluar la normalidad. Letras minúsculas iguales en una misma columna muestran que los porcentajes de mortalidad son estadísticamente iguales

( $p \geq 0,05$ ). \*Se utilizó el valor de F porque la homogeneidad de las varianzas y la normalidad (S-W) son mayores a 0,05.

Se definió el efecto ecotoxicológico agudo del Pb<sup>2+</sup> en *D. magna* a 24 y 48 h de exposición (Tabla N° 2), se observa un aumento en el porcentaje de mortalidad de *D. magna* con respecto al control desde la

concentración 0,4275 mg•L<sup>-1</sup> hasta 13,68 mg•L<sup>-1</sup>. La CL<sub>50</sub> a 48 h de exposición fue de 5,95 veces más tóxica que la CL<sub>50</sub> a 24 h de exposición.

Tabla N° 2. Efecto individual de Pb<sup>2+</sup> sobre *Daphnia magna* a 48 h de exposición

Concentración (mg•L <sup>-1</sup> )	<i>Daphnia magna</i>	
	Efecto individual Pb <sup>2+</sup> (% M)	
	24 h (± D.E.)	48 h (± D.E.)
0,0	0,00 (± 0,00) a	0,00 (± 0,00) a
0,42	10,00 (± 0,00) ab	30,00 (± 0,00) b
0,85	15,00 (± 1,44) bc	37,50 (± 1,25) cd
1,71	25,00 (± 1,44) cd	45,00 (± 1,44) de
3,42	35,00 (± 1,44) de	52,50 (± 1,25) e
6,84	42,50 (± 1,25) ef	75,00 (± 1,44) f
13,68	52,50 (± 1,25) e	85,00 (± 1,44) f
CL <sub>50</sub>	10,66	1,79
CL <sub>50</sub> -inferior	4,39	0,85
CL <sub>50</sub> -superior	25,85	3,76
PNEC	0,010661	0,001795
NOEC	0,42	< 0,42
LOEC	0,85	0,42
K-W	25,76	25,96
Sig.	0,00	0,00
Estadístico de Levene	11,50	11,50
Sig.	0,00	0,00
S-W	0,92	0,93
Sig.	0,05	0,06

Fuente: Elaborado por los autores

% M: % mortalidad. D.E.: Desviación Estándar. CL<sub>50</sub>: Concentración letal donde el 50% de los individuos expuestos mueren. CL<sub>50</sub>-inferior: Límite inferior de la CL<sub>50</sub>. CL<sub>50</sub>-superior: Límite superior de la CL<sub>50</sub>. PNEC: concentración sin efecto ecológico. NOEC: Concentración de efecto no observado. LOEC: Mínima concentración de observación de efecto. K-W: Prueba de Kruskal –Wallis. Estadístico de Levene: Prueba para evaluar la

homogeneidad de varianzas. S-W: Prueba de Shapiro–Wilks para evaluar la normalidad. Letras minúsculas iguales en una misma columna muestran que los porcentajes de mortalidad son estadísticamente iguales (p > 0,05).

Se halló el efecto ecotoxicológico agudo de la mezcla de aroclor 1254 y Pb<sup>2+</sup>, en base a ambos, en proporción 1:1 en *D. magna* a 24

y 48 h de exposición (Tabla N°3). Se verificó un incremento notable en el porcentaje de mortalidad de *D. magna* con respecto al control desde la concentración 0,01 + 0,850 mg•L<sup>-1</sup> hasta 0,16 + 13,68 mg•L<sup>-1</sup>, evaluadas. La CL<sub>50</sub> de

aroclor 1254 a 48 h de exposición fue 1,36 veces más tóxica que la CL<sub>50</sub> a 24 h de exposición. También, La CL<sub>50</sub> de Pb<sup>2+</sup> a 48 h de exposición fue 1,39 veces más tóxica que la CL<sub>50</sub> a 24 h de exposición.

**Tabla N° 3. Efecto de la mezcla en proporción 1:1 de aroclor 1254 y Pb<sup>2+</sup> sobre *Daphnia magna* expuesto a 48 h. Los valores de CL<sub>50</sub>, PNEC, NOEC y LOEC, se determinaron en base a aroclor 1254 y a Pb<sup>2+</sup>**

<i>Daphnia magna</i>		
Concentración (aroclor 1254 + Pb <sup>2+</sup> ) (mg•L <sup>-1</sup> )	Efecto mezcla 1:1 aroclor 1254 y Pb <sup>2+</sup> (% M)	
	24 h (± D.E.)	48 h (± D.E.)
0,0	0,00 (± 0,00) a	0,00 (± 0,00) a
0,01 + 0,85	47,50 (± 2,39) b	55,00 (± 2,50) b
0,02 + 1,71	52,50 (± 1,25) bc	60,00 (± 2,04) b
0,04 + 3,42	67,50 (± 2,39) cd	80,00 (± 2,04) c
0,08 + 6,84	82,50 (± 1,25) de	92,50 (± 1,25) cd
0,16 + 13,68	95,00 (± 2,50) e	97,50 (± 1,25) d
CL <sub>50</sub> (en base a aroclor 1254)	0,015	0,011
CL <sub>50</sub> -inferior (en base a aroclor 1254)	0,008	0,006
CL <sub>50</sub> -superior (en base a aroclor 1254)	0,028	0,020
PNEC (en base a aroclor 1254)	0,000015	0,000011
NOEC (en base a aroclor 1254)	< 0,01	< 0,01
LOEC (en base a aroclor 1254)	0,01	0,01
CL <sub>50</sub> (en base a Pb <sup>2+</sup> )	1,27	0,91
CL <sub>50</sub> -inferior (en base a Pb <sup>2+</sup> )	0,67	0,49
CL <sub>50</sub> -superior (en base a Pb <sup>2+</sup> )	2,40	1,67
PNEC (en base a Pb <sup>2+</sup> )	0,0011	0,00091
NOEC (en base a Pb <sup>2+</sup> )	0,85	0,85
LOEC (en base a Pb <sup>2+</sup> )	< 0,85	< 0,85
K-W	21,13	21,22
Sig.	0,00	0,00
Estadístico de Levene	3,17	1,39
Sig.	0,03	0,27
S-W	0,89	0,84
Sig.	0,01	0,00

Fuente: Elaborado por los autores

% M: % mortalidad. D.E.: Desviación Estándar.  $CL_{50}$ : Concentración Letal donde el 50% de los individuos expuestos mueren.  $CL_{50}$ -inferior: Límite inferior de la  $CL_{50}$ .  $CL_{50}$ -superior: Límite superior de la  $CL_{50}$ . PNEC: concentración sin efecto ecológico. NOEC: Concentración de efecto no observado. LOEC: Mínima concentración de observación de efecto. K-W: Prueba de Kruskal–Wallis. Estadístico de Levene: Prueba para evaluar la homogeneidad de varianzas. S-W: Prueba de Shapiro–Wilks para evaluar la normalidad. Letras minúsculas iguales en una misma columna muestran que los porcentajes de mortalidad son estadísticamente iguales ( $p \geq 0,05$ ).

Se evaluó el efecto ecotoxicológico agudo de la mezcla de aroclor 1254 y  $Pb^{2+}$ , en base a ambos, proporción 3:2 en *D. magna* a 24 y 48 h de exposición (Tabla N°4). Se verificó un incremento notable en el porcentaje de mortalidad de *D. magna* con respecto al control desde la concentración  $0,03 + 1,71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  hasta  $0,48 + 27,36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . La  $CL_{50}$  a 48 h de exposición de aroclor 1254 fue 1,50 veces más tóxica que la  $CL_{50}$  a 24 h de exposición. Incluso, la  $CL_{50}$  a 48 h de  $Pb^{2+}$  fue 1,51 veces más tóxica que la  $CL_{50}$  a 24 h de exposición.

**Tabla N° 4. Efecto de la mezcla en proporción 3:2 de aroclor 1254 y  $Pb^{2+}$  sobre *D. magna* expuesto a 48 h. Los valores de  $CL_{50}$ , PNEC, NOEC y LOEC, se determinaron en base a aroclor 1254 y a  $Pb^{2+}$**

<i>Daphnia magna</i>		
Concentración (aroclor 1254 + $Pb^{2+}$ ) ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Efecto mezcla 3:2 aroclor 1254 y $Pb^{2+}$ (% M)	
	24 h ( $\pm$ D.E.)	48 h ( $\pm$ D.E.)
0,0	0,00 ( $\pm$ 0,00) a	0,00 ( $\pm$ 0,00) a
0,03 + 1,71	65,00 ( $\pm$ 1,44) b	77,50 ( $\pm$ 1,25) b
0,06 + 3,42	75,00 ( $\pm$ 1,44) c	87,50 ( $\pm$ 1,25) c
0,12 + 6,84	87,50 ( $\pm$ 1,25) d	95,00 ( $\pm$ 1,44) cd
0,24 + 13,68	90,00 ( $\pm$ 0,00) d	97,50 ( $\pm$ 1,25) d
0,48 + 27,36	100,00 ( $\pm$ 0,00) e	100,00 ( $\pm$ 0,00) d
$CL_{50}$ (en base a aroclor 1254)	0,012	0,008
$CL_{50}$ -inferior (en base a aroclor 1254)	0,005	0,003
$CL_{50}$ -superior (en base a aroclor 1254)	0,032	0,021
PNEC (en base a aroclor 1254)	0,000012	0,000008
NOEC (en base a aroclor 1254)	< 0,03	< 0,03
LOEC (en base a aroclor 1254)	0,03	0,03
$CL_{50}$ (en base a $Pb^{2+}$ )	0,71	0,47
$CL_{50}$ -inferior (en base a $Pb^{2+}$ )	0,27	0,19
$CL_{50}$ -superior (en base a $Pb^{2+}$ )	1,82	1,17

<i>Daphnia magna</i>		
Concentración (aroclor 1254 + Pb <sup>2+</sup> ) (mg•L <sup>-1</sup> )	Efecto mezcla 3:2 aroclor 1254 y Pb <sup>2+</sup> (% M)	
	24 h (± D.E.)	48 h (± D.E.)
PNEC (en base a Pb <sup>2+</sup> )	0,00071	0,00047
NOEC (en base a Pb <sup>2+</sup> )	< 1,71	< 1,71
LOEC (en base a Pb <sup>2+</sup> )	1,71	1,71
K-W	22,16	20,36
Sig.	0,00	0,00
Estadístico de Levene	25,00	5,93
Sig.	0,00	0,00
S-W	0,74	0,63
Sig.	0,00	0,00

Fuente: Elaborado por los autores

% M: % mortalidad. D.E.: Desviación Estándar. CL50: Concentración Letal donde el 50% de los individuos expuestos mueren. CL50-inferior: Límite inferior de la CL50. CL50-superior: Límite superior de la CL50. PNEC: concentración sin efecto ecológico. NOEC: Concentración de efecto no observado. LOEC: Mínima concentración de observación de efecto. K-W: Prueba de Kruskal -Wallis. Estadístico de Levene: Prueba para evaluar la homogeneidad de varianzas. S-W: Prueba de Shapiro-Wilks para evaluar la normalidad. Letras minúsculas iguales en una misma columna

muestran que los porcentajes de mortalidad son estadísticamente iguales ( $p \geq 0,05$ ).

Para esta última mezcla de aroclor 1254 y Pb<sup>2+</sup>, en base a ambos, se evidenció un efecto ecotoxicológico en las cinco concentraciones presentando un aumento en el porcentaje de mortalidad con respecto al control desde la concentración 0,04 + 0,850 mg•L<sup>-1</sup> hasta la mezcla evaluada 0,64 + 13,68 mg•L<sup>-1</sup>. La CL<sub>50</sub> de aroclor 1254 a 48 h de exposición fue 1,33 veces más tóxica que la CL<sub>50</sub> a 24 h de exposición. En adición, la CL<sub>50</sub> a 48 h de Pb<sup>2+</sup> fue 1,38 veces más tóxica que la CL<sub>50</sub> a 24 h de exposición (tabla N°5).

**Tabla N° 5. Efecto de la mezcla en proporción 4:1 de aroclor 1254 y Pb<sup>2+</sup> sobre *D. magna* expuesto a 48 h. Los valores de CL<sub>50</sub>, PNEC, NOEC y LOEC, se determinaron en base a aroclor 1254 y a Pb<sup>2+</sup>**

<i>Daphnia magna</i>		
Concentración (aroclor 1254 + Pb <sup>2+</sup> ) (mg•L <sup>-1</sup> )	Efecto mezcla 4:1 aroclor 1254 y Pb <sup>2+</sup> (% M)	
	24 h (± D.E.)	48 h (± D.E.)
0,0	0,00 (± 0,00) a	0,00 (± 0,00) a
0,04 + 0,85	85,00 (± 1,44) b	90,00 (± 0,00) b
0,08 + 1,71	90,00 (± 0,00) bc	95,00 (± 1,44) bc
0,16 + 3,42	95,00 (± 2,50) bc	97,50 (± 1,25) c
0,32 + 6,84	100,00 (± 0,00) c	100,00 (± 0,00) c
0,64 + 13,68	100,00 (± 0,00) c	100,00 (± 0,00) c
CL <sub>50</sub> (en base a aroclor 1254)	0,004	0,003
CL <sub>50</sub> -inferior (en base a aroclor 1254)	0,001	0,001
CL <sub>50</sub> -superior (en base a aroclor 1254)	0,014	0,012
PNEC (en base a aroclor 1254)	0,000004	0,000003
NOEC (en base a aroclor 1254)	< 0,04	< 0,04
LOEC (en base a aroclor 1254)	0,04	0,04
CL <sub>50</sub> (en base a Pb <sup>2+</sup> )	0,083	0,060
CL <sub>50</sub> -inferior (en base a Pb <sup>2+</sup> )	0,02	0,015
CL <sub>50</sub> -superior (en base a Pb <sup>2+</sup> )	0,29	0,246
PNEC (en base a Pb <sup>2+</sup> )	0,000083	0,00006
NOEC (en base a Pb <sup>2+</sup> )	< 0,85	< 0,85
LOEC (en base a Pb <sup>2+</sup> )	0,85	0,85
K-W	19,67	18,69
Sig.	0,00	0,00
Estadístico de Levene	10,60	20,20
Sig.	0,00	0,00
S-W	0,59	0,53
Sig.	0,00	0,00

Fuente: Elaborado por los autores

% M: % mortalidad. D.E.: Desviación Estándar. CL50: Concentración Letal donde el 50 % de los individuos expuestos mueren. CL50-inferior: Límite inferior de la CL50. CL50-superior: Límite superior de la CL50. PNEC: concentración sin efecto ecológico. NOEC: Concentración de efecto no observado. LOEC: Mínima concentración de observación de efecto. K-W: Prueba de Kruskal –Wallis. Estadístico de Levene: Prueba para evaluar la homogeneidad de varianzas. S-W: Prueba de Shapiro–Wilks para evaluar la normalidad. Letras minúsculas iguales en una misma columna muestran que los porcentajes de mortalidad son estadísticamente iguales ( $p \geq 0,05$ ).

La estimación a las 48 h para PNEC fue de  $0,000016 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  para el ensayo de efecto individual de aroclor 1254 con *D. magna*. Este valor fue similar al valor de las subcategorías E1 (lagunas y lagos) y E2: Ríos (costa y sierra, selva) ( $0,000014 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), y por ende en base al PNEC se constata que el valor de calidad ambiental en la normatividad es adecuado, y conserva y protege a la vida acuática.

El valor obtenido a las 48 h para PNEC fue de  $0,0017 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  para el ensayo de efecto individual del  $\text{Pb}^{2+}$  con *D. magna*. Este valor es ligeramente menor a los valores de las subcategorías E1 (lagunas y lagos), E2: Ríos (costa y sierra, selva) ( $0,0025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Por lo tanto, genera riesgo ambiental al ser menor al valor de calidad ambiental para el  $\text{Pb}^{2+}$  y no protege al sistema acuático.

Por otro lado, la toxicidad de la mezcla aroclor 1254– $\text{Pb}^{2+}$  incrementa al aumentar la proporción de aroclor 1254, en relación con el tipo de interacción de la mezcla de ambos compuestos, según el modelo de PS. Para ambos compuestos todos los cocientes fueron superiores a uno y en relación con el aroclor 1254 se puede mencionar que la proporción 3:2 y 4:1 generaron un mayor valor en el efecto de sinergia que la proporción 1:1 en 1,37 y 3,67 veces, respectivamente. En cuanto al  $\text{Pb}^{2+}$  las proporciones 3:2 y 4:1 produjeron un incremento en la sinergia que la proporción 1:1 en 1,92 y 15,14 veces, respectivamente (tabla N° 6).

**Tabla N° 6. Valores de  $\text{CL}_{50-48\text{h}}$  ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) y PS (Proporción – Sinergia) para determinar el tipo de interacción entre compuestos (aroclor 1254 y  $\text{Pb}^{2+}$ )**

Mezcla	$\text{CL}_{50-48\text{h}}$ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) en base a aroclor 1254	$\text{CL}_{50-48\text{h}}$ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) en base a $\text{Pb}^{2+}$	PS		Interacción
			aroclor 1254	$\text{Pb}^{2+}$	
1:1	0,011	0,91	1,45	1,97	Sinergia
3:2	0,008	0,47	2,00	3,80	Sinergia
4:1	0,003	0,060	5,33	29,83	Sinergia

Fuente: Elaborado por los autores

Dónde: PS = 1 indica aditividad, PS > 1 muestra sinergia y PS < 1 orienta el antagonismo.

## Discusión

El uso de bioindicadores es una metodología apropiada para la evaluación de calidad de los cuerpos de agua dulce. Estos organismos de prueba se emplean para diagnosticar el riesgo ecológico al que se encuentran expuestos en el ecosistema acuático (Iannacone et al., 2010).

Para aroclor 1254 se obtuvo una  $CL_{50}$  de 0,030 y 0,016  $mg \cdot L^{-1}$ , a las 24 y 48 h de exposición, respectivamente. En el estudio de Maki & Johnson (1975) se usó aroclor 1254 sobre *D. magna* y se obtuvo una  $CL_{50-14d} = 0,024 mg \cdot L^{-1}$ . Posiblemente, estos resultados no coinciden con los obtenidos en este trabajo por el tipo de compuesto soluble empleado que fue acetona. En el trabajo actual las diluciones con compuestos semivolátiles se realizan con el solvente orgánico diclorometano.

Los bifenilos policlorados como el EDC aroclor 1242 presentan para *D. magna* una  $CL_{50-48h} = 0,23 mg \cdot L^{-1}$  (Zou & Fingerman, 1997). El uso del EDC aroclor 1248 sobre el pez *Ameiurus nebulosus* Lesueur, 1819, generó disrupción endocrina disminuyendo la respuesta de la hormona esteroide, el cortisol y la hormona tiroidea  $T_3$  (Iwanowicz et al., 2009).

Los valores hallados de  $CL_{50}$  de  $Pb^{2+}$  para 48 h de exposición en *D. magna* se acercan al valor encontrado por Zárate & Sierra (2008), quienes emplearon el metal  $Pb^{2+}$  a las 24 h sobre *D. magna* con una  $CL_{50} = 9,49 mg \cdot L^{-1}$ . Altindag et al. (2008) mostraron que  $Pb^{2+}$  a las 24 h sobre la misma especie presentó un valor de  $CL_{50} = 0,44 mg \cdot L^{-1}$ . Okamoto et al. (2014) encontró que para el  $Pb^{2+}$  sobre *D. magna* presenta un valor de  $EC_{50} = 0,28 mg \cdot L^{-1}$ . Otros ensayos manifiestan que la toxicidad del  $Pb^{2+}$  para la especie en mención es dispersa y voluble, en un rango desde 0,15  $mg \cdot L^{-1}$  hasta 4,92  $mg \cdot L^{-1}$ . Los diferentes resultados identificados pueden ser consentidos por la variabilidad genética

de cada individuo de *D. magna* y diferencias en las condiciones de cultivo (Baird et al., 1985).

Nuestros resultados de pH nos indican que los valores disminuyen en base al incremento de la concentración de nitrato de plomo ( $Pb(NO_3)_2$ ) y el tiempo de exposición, consiguiendo un aumento en la toxicidad aguda. En la literatura científica los resultados muestran relaciones variables entre el pH y la concentración de  $Pb(NO_3)_2$ . Paul et al. (2019), expresan que la exposición desde 0  $mg \cdot L^{-1}$  hasta 350  $mg \cdot L^{-1}$  del  $Pb(NO_3)_2$  en *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, generó un incremento de pH desde 7,4 hasta 7,7, debido al alimento no consumido y por la descarga de desechos metabólicos. En el estudio de Qin et al. (2014), manifiestan que la toxicidad del  $Pb^{2+}$  disminuye cuando se somete a diferentes valores de pH desde 5 hasta 9, de esta manera, se determinó que la  $CL_{50}$  de  $Pb^{2+}$  sobre *D. magna*, decreció con el porcentaje de disponibilidad e incremento del ión libre  $Pb^{2+}$ . Igualmente, la toxicidad del  $Pb^{2+}$  para *D. magna* fue menor en medio alcalino que en condiciones ligeramente ácidas. Las condiciones del bioensayo como, pH, temperatura afectan la biodisponibilidad del compuesto y como consecuencia la toxicidad en el medio acuático (Tomaille & Iannacone, 2018). Así, cuando el pH del agua disminuye, la toxicidad del Pb aumenta debido al incremento de los iones libres de este metal, lo cual puede ser explicado por la forma activa del plomo en el agua que es  $Pb^{2+}$ . Cuando el pH del agua aumenta, el  $Pb^{2+}$  existe en forma de complejos de hidróxido u otros complejos, lo que provoca una disminución del plomo biodisponible, lo que reduce la toxicidad en *D. magna* y altera la absorción del Pb, afectando a la ecotoxicología acuática del Pb (Hong et al., 2020).

En nuestro estudio, se observó que, a condiciones ligeramente ácidas del pH, hay un mayor efecto de toxicidad, y que depende de la composición fisicoquímica del medio acuoso. La  $CL_{50}$  hallada para *D. magna* fue de 1,79  $mg \cdot L^{-1}$ , la cual se encuentra dentro del

rango mencionado anteriormente y después de 48 h fue suficiente para eliminar el 85 % de la población en la concentración más alta.

En adición, la sinergia ocasionada en todas las proporciones de los dos compuestos evaluados (aroclor 1254 y  $Pb^{2+}$ ), se puede atribuir al efecto del estrés oxidativo del  $Pb^{2+}$  en individuos de *D. magna*, que causan un incremento en las enzimas antioxidantes como el superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT) (Kim et al., 2016). Incluso, el  $Pb^{2+}$  es considerado un disruptor endocrino. En el estudio de Kim et al. (2018), se evidenció una modulación oxidativa de marcadores de estrés oxidativo en *D. magna* por acción de  $Pb^{2+}$  y que se encuentran altamente involucrados en la protección celular. En la exposición de las larvas de pez cebra, *Danio rerio* Hamilton-Buchanan, 1822, a  $30 \mu g \cdot L^{-1}$  del  $Pb^{2+}$ , generó una disminución notable en los niveles de hormona tiroidea (Miao et al., 2015). También, se encontró que la exposición del  $Pb^{2+}$  sobre individuos del pez *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758 aumentó la actividad antioxidante SOD, transformando eficientemente el oxígeno (Ochoa & González, 2008).

La toxicidad de las proporciones 3:2 y 4:1 fueron las más altas debido al aumento de aroclor 1254 y del  $Pb^{2+}$ , y que estas generaron un mayor valor en el efecto de sinergia que la proporción 1:1 en 1,37 y 3,67 veces, respectivamente. Se halló efecto sinérgico en los tres tipos de mezclas. Este efecto de sinergismo probablemente ocurre porque ambas sustancias generan un efecto de disrupción endocrina en *D. magna*. En la actualidad, no hay datos ecotoxicológicos de mezclas binarias entre un compuesto orgánico (aroclor 1254) y un metal ( $Pb^{2+}$ ) sobre modelos biológicos. Asimismo, en el estudio de mezclas de disruptores endocrinos como, diazinón y atrazina, sobre *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894, también lograron resultados de sinergismo (Banks et al., 2005). Incluso, en otro estudio de mezclas binarias se

menciona que existe un efecto aditivo entre deltametrina y cobre sobre *D. magna* (< 24h) (Barata et al., 2006).

En la comparación de los valores PNEC para las 48 h de exposición con los ECA categoría 4- E1 (lagunas y lagos) y E2 ríos (costa y sierra, selva), el valor para el parámetro bifenilos policlorados brindaría protección para la conservación del medio acuático, debido a que encontramos valores similares a éste en base al PNEC; sin embargo, el valor del parámetro  $Pb^{2+}$  no ofrecería una adecuada conservación para la biota, al presentarse sobre el PNEC encontrado con *D. magna*. Finalmente, se debe realizar más evaluaciones en bioensayos de toxicidad agudos, subagudos y crónicos del aroclor 1254 y del  $Pb^{2+}$  para determinar su comportamiento individual y de mezcla, sobre diferentes modelos biológicos, y que nos permitan asegurar la posible conservación del medio dulceacuícola.

## Conclusiones

Los resultados de  $CL_{50-48h}$  evidencian que el nivel de ecotoxicidad de los tóxicos analizados con *D. magna*, en orden de disminución fue: aroclor 1254 >  $Pb^{2+}$ . Las  $CL_{50-48h}$  determinadas para  $Pb^{2+}$  a través del método probit se acercaron a las  $CL_{50-24h}$  y  $CL_{50-48h}$  hallados en la bibliografía. Además, en todas las proporciones existe una sinergia entre aroclor 1254 y el  $Pb^{2+}$ , y que la proporción 3:2 y 4:1 generaron mayores valores de la proporción – sinergia (PS) que la proporción 1:1. Con respecto a los PNEC hallados y su relación con la categoría 4-E1 (lagunas y lagos) y E2 (ríos), se comprueba que el valor del parámetro bifenilos policlorados es apropiado; sin embargo, la concentración máxima del parámetro  $Pb^{2+}$  es inadecuada y este debería disminuir numéricamente para favorecer la conservación de la biota acuática.

## Referencias

- Alpha, R. (2017). Calculating LD<sub>50</sub>/LC<sub>50</sub> using Probit analysis in Excel. [fecha de acceso 17 de marzo de 2019]. Recuperado de <https://probitanalysis.wordpress.com/>
- Altindag, A., Borga, M., Yigit, S., & Baykan, O. (2008). The acute toxicity of lead nitrate in *Daphnia magna* Straus. *Journal of Biotechnology*, 7, 4298-4300.
- Autoridad Nacional del Agua [ANA]. (2014). Diagnóstico de la Calidad de los Recursos Hídricos en el Perú 2000- 2012. Recuperado de <https://repositorio.ana.gob.pe/handle/20.500.12543/212>
- Baird, J., Barber, I., Bradley, M., Soares, M., & Calow, P. (1985). A Comparative study of genotype sensitivity to acute toxic stress using clones of *Daphnia magna* Straus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21, 216-229.
- Banks, K., Turner, P., Wood, S., & Matthews, C. (2005). Increased toxicity to *Ceriodaphnia dubia* in mixtures of atrazine and diazinon at environmentally realistic concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 28-36.
- Barata, C., Baird, D., Nogueira, A., Soares, A., & Riva, M. (2006). Toxicity of binary mixtures of metals and pyrethroid insecticides to *Daphnia magna* Straus. Implications for multi-substance risks assessment. *Aquatic Toxicology*, 78, 1-14.
- Bautista-Medina, Y.B., & Iannacone, J. (2020). Toxicidad del lodo de perforación minera en el bioindicador *Porcellio laevis* (latreille, 1804) (Crustacea: Isopoda). *Paideia XXI*, 10, 95-119.
- Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM (2017). Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua y establecen Disposiciones Complementarias. Recuperado de <https://www.minam.gob.pe/disposiciones/decreto-supremo-n-004-2017-minam/>
- De Rooij, C., Thompson, R., Garny, V., Lecloux, A., & Van Wijk, D. (2004). Dichloromethane marine risk assessment with special reference to the Osparcom región: North Sea. *Environmental Monitoring and assessment*, 97, 3-22.
- Escobar-Chávez, C., Alvarino, L., & Iannacone, J. (2019). Evaluation of the aquatic environmental risk of the mixture of the pesticides imidacloprid (insecticide) and propineb (fungicide) in *Daphnia magna* Straus, 1820. *Paideia XXI*, 9, 301-332.
- Gaete, H., & Chávez, C. (2007). Evaluación de la toxicidad de mezclas binarias de cobre, cinc, y arsénico sobre *Daphnia obtusa* (Kurz, 1874) (Cladocera, Crustacea). *Limnetica*, 27, 1-10.
- Gaete, H., Guerra, R., Carvajal, D., Mukarker, M., & Lobos, G. (2014). Evaluación de la genotoxicidad de las aguas costeras de Chile central sobre los peces *Mugil cephalus* y *Odontesthes brevianalis*. *Hidrobiológica*, 24, 271-279.
- Hewlett, P., & Plackett, R. (1959). A unified theory for quantal responses to mixtures of drugs. Non-interactive action. *Biometrics*, 15, 591- 610.
- Hong, P.T., Ha, L.T.T., Hien, N.T.T., Chung, N.T., Hung, N.Q., Cuong, N.C., & Huong, H.T.T. (2020). Combination impact of pH and temperature on the toxicity of lead on zooplankton in the context of global

- warming. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 58, 105-114.
- Iannacone, J., Alvarino, L., & Paredes, C. (2009). Evaluación del riesgo ambiental del arseniato de plomo en bioensayos con ocho organismos no destinatarios. *Acta Toxicológica Argentina*, 4, 73-82.
- Iannacone, J., Alvarino, L., Paredes, C., & Ayala, H. (2012). Toxicidad aguda y crónica de la quinoleína fenólica sobre la pulga del agua *Daphnia magna*. *The Biologist (Lima)*, 10, 24-33.
- Iannacone, J., Alvarino, L., & Mamani, N. (2010). Estimación de la toxicidad combinada de mezclas de Furadán 4F y Monofos sobre *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 6, 23-29.
- Iwanowicz, L., Blazer, V., McCormick, S., VanVeld, P., & Ottinger, C. (2009). Aroclor 1248 exposure leads to immunomodulation, decreased disease resistance and endocrine disruption in the brown bullhead, *Ameiurus nebulosus*. *Aquatic Toxicology*, 93, 70-82.
- Kim, H., Yim, B., Bae, C., & Lee, Y. (2016). Acute toxicity and antioxidant responses in the water flea *Daphnia magna* to xenobiotics (Cadmium, Lead, Mercury, Bisphenol A, and 4-Nonylphenol). *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 9, 41-49.
- Kim, H., Kim, J., Kim, P., Won, E., & Lee, Y. (2018). Response of antioxidant enzymes to Cd and Pb exposure in water flea *Daphnia magna*: Differential metal and age-specific patterns. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 209, 28-36.
- Maki, A., & Johnson, H. (1975). Effects of PCB (Aroclor 1254) and p,p' DDT on Production and Survival of *Daphnia magna* Strauss. *Environmental Contamination & Toxicology*, 13, 412-416.
- Miao, W., Zhu, B., Xiao, X., Li, Y., Dirbaba, N., Zhou, B., & Wu, H. (2015). Effects of titanium dioxide nanoparticles on lead bioconcentration and toxicity on thyroid endocrine system and neuronal development in zebrafish larvae. *Aquatic Toxicology*, 161, 117-126.
- Ministerio de la Producción. (2010). Informe Nacional sobre el Estado del Ambiente Marino del Perú. 1 (1). 1-178.
- Nakari, T., & Huhtala, S. (2008). Comparison of the toxicity of congener -153 of PCB, PBB and PBDE to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1, 514-518.
- Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos [OECD]. (2011). *Manual for the Assessment of Chemicals. Annex 1 Calculation of PNEC*. Recuperado de <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/49188998.pdf>
- Ochoa, D., & González, J. (2008). Estrés oxidativo en peces inducido por contaminantes ambientales. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 55, 115-126.
- Ona, K., & Medina, P. (2015). Crude anthocyanin extract (CAE) from ballatinao black rice reduces acute lead toxicity in *Daphnia magna*. *Environment pollution and human Health*, 3, 18-23.
- Okamoto, A., Yamamuro, M., & Tatarazako, N. (2014). Acute toxicity of 50 metals

- for *Daphnia magna*. *Journal of Applied Toxicology*, 35, 824-830.
- Paul, S., Mandal, A., Bhattacharjee, P., Chakraborty, S., Paul, R., & Kumar, B. (2019). Evaluation of water quality and toxicity after exposure of lead nitrate in fresh water fish, major source of water pollution. *Egyptian Journal of aquatic research*, 45, 345-351.
- Peñafiel-Sandoval, Z. & Iannacone, J. (2020). Effects of urea and lead absorption in corn (*Zea mays* L.), spinach (*Spinacia oleracea* L.) and cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Agronomía Colombiana*, 38, 251-263.
- Qin, L., Huang, Q., Wei, Z., Wang, L., & Wang, Z. (2014). The influence of hydroxyl-functionalized multi-walled carbon nanotubes and pH levels on the toxicity of lead to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38, 199-204.
- Rosas, J., & Iannacone, J. (2020). Bioacumulación de elementos potencialmente tóxicos (EPT) por *Sarcocornia neei* en un humedal costero del Perú. *Ciencias del Suelo (Argentina)*, 38, 343-354.
- Sokol, R., Bush, B., Wood, L., & Jahan-Parwar, B. (1992). Production of aqueous PCB solutions for environmental toxicology. *Chemosphere*, 24, 483-495.
- Tomaila, J., & Iannacone, J. (2018). Toxicidad letal y subletal del arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Parachaeirodon innesi* neon tetra (Characidae). *Revista de Toxicología*, 35, 95-105.
- Won, J., Hee, S., & Sung, H. (2019). Ecotoxicity assessment of 1,4-dioxane and dichloromethane in industrial effluent using *Daphnia magna*. *Applied Chemical Engineering*, 30, 466-471.
- Zárate, A., & Sierra, M. (2008). *Determinación de la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) del plomo y plata en los vertimientos de una industria galvánica, mediante ensayos toxicológicos sobre Daphnia magna* (tesis de pregrado). Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia.
- Zou, E., & Fingerman, M. (1997). Effects of estrogenic xenobiotics on molting of the water flea, *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38, 281-285.