

The Biologist  
(Lima)**ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL****TOXICIDAD AGUDA Y CRÓNICA DE LA QUINOLEÍNA FENÓLICA SOBRE LA PULGA DEL AGUA *DAPHNIA MAGNA*****ACUTE AND CHRONIC TOXICITY OF PHENYL QUINOLINE ON WATER FLEA *DAPHNIA MAGNA***José Iannacone-Oliver<sup>1,2</sup>, Lorena Alvariano-Flores<sup>1</sup>, Christian Paredes-Espinal<sup>1</sup> & Hildebrando Ayala-Oroya<sup>1</sup><sup>1</sup> Laboratorio de Ecofisiología Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal. El Agustino, Lima, Perú.<sup>2</sup> Museo de Historia Natural. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma. Santiago de Surco, Lima, Perú. Correo electrónico: joseiannacone@yahoo.es

The Biologist (Lima), 2012, 10(1), jan-jun: 24-33.

**ABSTRACT**

The aquatic ecotoxicological determination of phytonematicide products using the zooplanktonic cladoceran *Daphnia magna* is important for environmental risk assessment. Evaluations were made of the acute median lethal concentration ( $LC_{50}$ ) of phenyl quinoline on *D. magna*, that was  $4.12 \text{ ug i.a. L}^{-1}$  at 48 h of exposure. The chronic effects of phenyl quinoline in the mortality rate of the cladoceran *D. magna* at 17 d of exposure, with  $0.18 \text{ ug ai L}^{-1}$  of LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) and  $0.072 \text{ ug ai L}^{-1}$  of NOEC (No Observed Effect Concentration) were determined. Evaluations of the chronic effect of phenyl quinoline on three parameters of growth of *D. magna* (total length, antenna length and caudal length) to 17 d of exposure, only showed significant differences in length of the antenna between the control and  $0.072 \text{ ug ai L}^{-1}$  been this the value of LOEC and thus the lower concentration  $0.0288 \text{ ug ai L}^{-1}$ , the NOEC value for phenyl quinoline. The ratio between acute and chronic toxicity (RAC) for the relationship showed acute 48 h exposure on mortality NOEC 17 d a value of 57.22, and for the ratio of acute NOEC on of the length of the antenna to 17 d was a value of 143. The environmental risk assessment (ERA) shows that the PEC (Probable Effect Concentration) / PNEC (Predicted No-Effect Concentration) for acute assay was 582 524 and for the PEC / PNEC for chronic test was 83 333 333. These results demonstrate that phenyl quinoline has a high impact on aquatic biota represented by the trophic level that belongs to *D. magna*, and therefore shows that the substance is a candidate for a comprehensive ecotoxicological assessment.

**Key words:** acute toxicity, chronic toxicity, Cladocera, *Daphnia*, phenyl quinoline.

**RESUMEN**

La determinación ecotoxicológica acuática de productos fitonematicidas empleando al cladóceros zooplanctónico *Daphnia magna* es importante para la evaluación de riesgos ambientales. Fue evaluada la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) aguda de la quinoleína fenólica sobre *D. magna* a 48 h de exposición, la que fue  $4,12 \text{ ug ia L}^{-1}$ . Se evaluó el efecto crónico de la quinoleína fenólica en el porcentaje de mortalidad del cladóceros *D. magna* a 17 d de exposición, siendo  $0,18 \text{ ug ia L}^{-1}$  el LOEC (Concentración más baja de efectos observables) y  $0,072 \text{ ug ia L}^{-1}$  el NOEC (Concentración de efectos no observables). Al evaluar el efecto crónico de la quinoleína fenólica sobre tres parámetros de crecimiento de *D. magna* (longitud total, longitud de la antena y longitud de la espina caudal) a 17 d de exposición, solo mostró diferencias significativas en la longitud de la antena entre el control y  $0,072 \text{ ug ia L}^{-1}$ , siendo este valor de LOEC y por lo tanto la concentración inferior  $0,0288 \text{ ug ia L}^{-1}$  el valor de NOEC para la

quinoleína fenólica. El radio entre la toxicidad aguda y crónica (RAC) mostró para la relación aguda a 48 h de exposición sobre el NOEC de mortalidad a 17 d, un valor de 57,22, y para la relación aguda sobre el NOEC de la longitud de la antena a 17 d, un valor de 143. La evaluación del riesgo ambiental (ERA) nos muestra que la relación PEC (concentración ambiental esperada) / PNEC (Concentración de efectos no esperados) para el ensayo agudo fue de 582.524, y para la relación PEC/PNEC para el ensayo crónico fue 83333333,33. Estos resultados demuestran que la quinoleína fenólica presenta un alto efecto en la biota acuática representada por el nivel trófico al que pertenece *D. magna*, y por lo tanto esta sustancia es candidata para una evaluación ecotoxicológica integral.

**Palabras clave:** Cladocera, *Daphnia*, quinoleína fenólica, toxicidad aguda, toxicidad crónica.

## INTRODUCCIÓN

La quinoleína fenólica es un compuesto químico orgánico que pertenece al grupo de los azarenos, los cuales han demostrado efectos gastroprotectivos en ratones (Bleker 2002, Zanatta et al. 2009). De igual forma se han encontrado efectos de la quinoleína y sus derivados contra los protozoarios zoonóticos *Leishmania brasiliensis* Vianna, 1911 y *Plasmodium* spp. (Fournet et al. 1994, Foley & Tilley 1998). También se han registrado en estos compuestos orgánicos efectos fungicidas contra plagas agrícolas (Petzoldt 2010). Estos derivados quinólicos presentan una muy buena actividad nematocida (Nagase et al. 1982, Kusano et al. 2000). Cushman & McKamey (1981) han realizado bioensayos con quinoleína en la larva del insecto *Chironomus tentans* Fabricius, 1805. Dumont et al. (1979) señalan resultados con la quinoleína sobre el anuro anfibio *Xenopus laevis* (Daudin, 1802).

En los ambientes dulceacuícolas, el zooplancton está compuesto principalmente por rotíferos, cladóceros y copépodos. En términos de biomasa los cladóceros son generalmente los *taxa* dominantes, y debido que no presentan estadio naupliar, maduran rápidamente y ocupan todo tipo de hábitats disponibles, presentándose en el zooplancton los géneros *Moina*, *Diaphanosoma*, *Ceriodaphnia* y *Daphnia* (Sánchez-Ortíz et al. 2010).

*Daphnia magna* Strauss, 1820 (Crustacea: Daphniidae), el “canario de las aguas” o el “ratón de laboratorio” es una especie partenogenética altamente sensible a diferentes sustancias químicas (Iannacone & Alvariano 2007,

Iannacone et al. 2007a,b, 2009) y es ampliamente usada en bioensayos ecotoxicológicos a nivel mundial (Pieters & Liess 2006, Verma 2008, Persoone et al. 2009). Esto es debido a su: 1) alta sensibilidad al estrés ambiental, 2) importante rol en la biota zooplanctónica, 3) facilidad de cultivo, 4) corto ciclo de vida con la producción de un alto número de crías, 5) uniformidad genética al ser partenogenética, 6) posibilidad de ser un método de pretamizado alternativo a los ensayos con mamíferos (Guilhermino et al. 2000, Castillo 2004, Kallquist et al. 2006, Reynaldi et al. 2006, Iannacone & Alvariano 2007, Maleki et al. 2007, Verma 2008, Iannacone & Alvariano 2009, Persoone et al. 2009, Sánchez-Ortíz et al. 2010).

Dentro de los principales factores que afectan la biodiversidad en todas sus escalas composicional, estructural y funcional tenemos la degradación ambiental por sustancias químicas (González-Valero et al. 2000), y entre ellas, la quinoleína fenólica, puede llegar a los biomas acuáticos marinos y dulceacuícolas.

Es importante determinar si la quinoleína fenólica tiene efectos deletéreos agudos y crónicos sobre la pulga del agua *D. magna*, invertebrado zooplanctónico representante del ambiente dulceacuícola. Este biosensor y bioindicador ecológico (Ryan et al. 2009) podría ser empleado como un “kit” referencial patentado en INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual), Perú para determinar la toxicidad de cualquier sustancia química orgánica y podría ofrecerse como un “servicio” en consultorías ambientales que evalúan el riesgo de sustancias químicas en el ambiente.

Para predecir el impacto de la contaminación de la quinoleína fenólica en el ambiente acuático es necesario evaluar su efecto agudo y crónico sobre este organismo invertebrado acuático de referencia estandarizado.

A la fecha no se tienen resultados ecotoxicológicos agudos y crónicos de la quinoleína fenólica sobre organismos no destinatarios zooplanctónicos como *D. magna*. Por ende surge la siguiente pregunta ¿Existirá un efecto ecotoxicológico agudo y crónico de la quinoleína fenólica sobre el invertebrado acuático *Daphnia magna* en el Perú?. De esta forma, el objetivo de este trabajo fue determinar la toxicidad aguda y crónica de la quinoleína fenólica sobre *D. magna*, y a partir de estos resultados estimar el riesgo ambiental de esta sustancia química orgánica en el ambiente dulceacuícola.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestra

Los bioensayos ecotoxicológicos con la quinoleína fenólica sobre *D. magna* se realizaron según el ámbito espacial en el Laboratorio de Ecofisiología Animal (LEFA), Facultad de Ciencias Naturales y Matemática (FCCNM), Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), Distrito del Agustino, Lima, Perú, y en el ámbito temporal fue entre abril a octubre del 2011.

### Material Químico

Quinoleína fenólica: CAS 612-96-4 ( $C_{15}H_{11}N$ ) (Fig. 1). El producto fue grado técnico: Quinoleína fenólica (95%). Peso molecular = 205,25  $g \cdot mol^{-1}$ . Punto de ebullición = 363°C. Punto de fusión = 80°C. Solubilidad en agua = insoluble.  $pK_b = 9,46$ . El Coeficiente de partición  $pK_{ow} = 3,90$ . Calor de vaporización = 58,5  $kJ \cdot mol^{-1}$ . No es listado como un carcinógeno humano.

Es un producto con propiedades nematocidas sobre el "nematodo del nudo" *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 que afecta al tomate, apio, pepinillo, papa, zanahoria, vid y paprika.

Se empleó el nematocida agrícola comercial Nemathor 20 L CE (Comercial Andina Industrial SAC), registrado en el SENASA, Perı (Servicio Nacional de Sanidad Agraria) No 826-99-AG-SENASA (R.D. No005-2010-AG-SENASA-DIAIA).

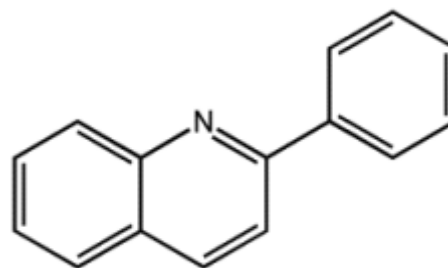


Figura 1. Formula química de la quinoleína fenólica.

### Instrumentos y procedimientos

Se empleó a *D. magna*. Los individuos se proveyeron de un acuario de Lima, Perı que tuvo un cultivo estable y saludable de más de un año. Se cultivaron en el laboratorio en un medio denominado ADAM, cuyas características se indican en la Tabla 1 y se aclimataron en el laboratorio por cuatro semanas previas a los bioensayos en recipientes de 5 L de capacidad. Para las pruebas de toxicidad aguda se emplearon siete concentraciones (0,072; 0,18; 0,22; 0,44; 0,88; 1,75 y 3,50  $ug \cdot i.a \cdot L^{-1}$ ) y un control negativo a base de agua de clorinada. Las concentraciones siguieron mayormente un factor de dilución de 0,5. Se aplicaron para el ensayo crónico las siguientes cinco concentraciones crecientes de la quinoleína fenólica en agua de clorinada en  $ug \cdot i.a \cdot L^{-1}$ : 0,0046; 0,0115; 0,0288; 0,0720 y 0,180. Las cinco concentraciones siguieron un factor de incremento de 0,4. La unidad de muestra para los bioensayos fueron recipientes de plástico de 250 mL, con 200 mL de agua de clorinada. La temperatura ambiental de los ensayos fue de  $20 \pm 2^\circ C$ . El fotoperíodo fue de 11 h luz / 13 h oscuridad. La humedad relativa de 75-85 % y calidad de luz a base de un fluorescente, blanco-frío. El agua presentó un pH entre 6,5 –8,2; OD (Oxígeno Disuelto) de 6  $mg \cdot L^{-1}$ , y una Dureza total de 160 – 180  $mg \cdot CaCO_3 \cdot L^{-1}$ . Para los ensayos agudos

y crónicos se usó como criterio de mortalidad la carencia de movilidad o la ausencia de ritmo cardíaco a 15 s de observación al microscopio estereoscópico. Antes de efectuar las lecturas se agitaron los envases en forma circular para reactivar el movimiento de los organismos que se posaban inmóviles en el fondo del recipiente (Castillo 2004).

**Toxicidad aguda:** Se siguió el protocolo de EPA (1996): OPPTS N°850.1010. Se realizó una prueba de toxicidad aguda en paralelo a 24 h de exposición empleando como control positivo al  $K_2Cr_2O_7$  con cinco concentraciones: 0,1125, 0,225, 0,45, 0,90 y 1,80  $mg \cdot L^{-1}$  con el fin de asegurar la adecuada condición fisiológica de los neonatos de *D. magna* (Persoone *et al.* 2009). Se usaron 10 individuos por envase de ensayo.

**Toxicidad crónica:** Se tomó como referencia para la realización de los bioensayos la guía 211 OECD (1998). La alimentación de las hembras-neonatas fue a base de Tetramin® disuelto (1/10) en agua de clorinada a una dosis de alimento aproximado de 2 gotas de preparado alimenticio diario. La frecuencia de recambio del medio fue tres veces por semana (condiciones semi-estáticas). Los bioensayos se iniciaron con neonatos de menos de 24 h. Se emplearon seis concentraciones, incluyendo el control y un total de 10 neonatos por concentración, los que fueron colocados individualmente en cada uno de los envases experimentales. La duración del bioensayo de toxicidad crónica fue en total 17 días. Se determinó la mortalidad de los cladóceros a 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14 y 17 días del bioensayo. Al final de la prueba se determinó en las hembras: 1) la longitud total (LT), 2) longitud de la antena (LA) y 3) longitud de la espina caudal (LEC) de *D. magna* (Stephenson *et al.* 1991, Calow 1993, Boersma 1997, Villarroel 2004, Castiglioni & Collins 2010). Para la validez del ensayo crónico, la mortalidad en el control no fue mayor al 20 % (Biesinger & Christensen 1972, Passino & Novak 1984).

**Diseño experimental y tratamiento de datos:** las pruebas de toxicidad aguda se evaluaron en siete concentraciones más el control con cuatro réplicas por concentración conteniendo diez neonatos por cada unidad experimental. Las lecturas se realizaron a las 24 h y a las 48 h de exposición. El diseño fue en bloque completamente aleatorizado (DBCA) de 8 x 4. Las pruebas de toxicidad crónica se evaluaron en cinco concentraciones más el control, con diez repeticiones, en un DBCA. Para el caso de la mortalidad de las pulgas de agua en las 10 repeticiones se dividieron en dos grupos de 5 repeticiones cada una y se calculó en cada uno el porcentaje de mortalidad. En todos los casos (agudos y crónicos), la eficacia de los tratamientos y las repeticiones se evaluaron a través de un análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías y una prueba de + de Student (t), respectivamente previa transformación de los datos a raíz cuadrada del arcoseno en el caso de mortalidad de los neonatos (ensayo agudo y crónico) a 24 y 48 h de exposición y a log X-1 en el caso de la LT, LA y LEC (ensayo crónico), a los 17 días de exposición.

El modelo de regresión fue verificado usando los estadísticos de Chi-cuadrado ( $X^2$ ) y de Fisher (F). Se usó el método Probit para la determinación de los valores de Concentración letal media ( $CL_{50}$ ) para la mortalidad en ensayos agudos y crónicos. Para los ensayos crónicos se calcularon los valores de LOEC (Concentración más baja de efectos observables) y NOEC (Concentración de efectos no observables). Las correcciones de los porcentajes de mortalidad del control y de las concentraciones empleando la fórmula de Schneider-Orelli se realizaron con EHABSOFT (2011). Se empleó el paquete estadístico SPSS, versión 17,0 para Windows 98 para el cálculo de los parámetros estadísticos descriptivos e inferenciales.

**Radio entre toxicidad aguda y crónica:** Se determinó el radio de toxicidad acuática aguda y crónica de la quinoleína fenólica sobre *D. magna*. Se usó el valor de  $CL_{50}$  a 48 h de exposición para el ensayo agudo y el valor de NOEC a los 17 días de exposición que mostró efectos significativos en relación a la quinoleína fenólica para el ensayo crónico (Roex *et al.* 2000).



**Evaluación del Riesgo Ambiental (ERA):** Se empleó esta técnica para determinar la naturaleza y magnitud de riesgo de la quinoleína fenólica, usando el escenario más crítico, y de peor exposición en el ambiente acuático.

Se siguió el protocolo propuesto Yamamoto *et al.* (2007). La concentración de efectos no esperados (PNEC) se determinó empleando la  $CL_{50}$  para los ensayos agudos y el NOEC para los ensayos crónicos. Para la estimación del PNEC se emplearon los factores de evaluación de aplicación de 1000 y de 100, para el ensayo agudo y crónico, respectivamente. El valor de la concentración ambiental esperada (PEC) fue determinada a partir de la dosis promedio de aplicación de 720 mg IA de quinoleína fenólica  $L^{-1}$  (Iannacone *et al.* 2007a). Siendo el valor de PEC de 2400 mg IA de quinoleína fenólica  $L^{-1}$ . El criterio inicial de evaluación de riesgo ecológico usó los siguientes tres valores: (1)  $PEC/PNEC < 0,1$  lo cual indica que no se requiere más evaluación; (2)  $0,1 < PEC/PNEC < 1$ , lo cual muestra que se requiere obtener mayor cantidad de información, y (3)  $1 < PEC/PNEC$ , lo cual señala que la sustancia es candidata para una evaluación adicional posterior.

## RESULTADOS

**Toxicidad aguda:** Fue determinada la concentración letal media de la quinoleína fenólica sobre *D. magna* a 24 h ( $CL_{50} = 6,45$  ug  $ia \cdot L^{-1}$ , Límites de Confianza (No determinados) y 48 h ( $CL_{50} = 4,12$  ug  $ia \cdot L^{-1}$ , Límites de Confianza (1,80 y 42,49 ug  $ia \cdot L^{-1}$ ) (Tabla 2). Los valores de Chi-cuadrado para el ajuste de la recta fueron para 24 h y 48 h de exposición, 3,44 y 0,34, respectivamente, siendo el valor de tabla de 11,07 ( $P < 0,05$ ).

**Toxicidad crónica:** Se evaluó el efecto crónico de la quinoleína fenólica en el porcentaje de mortalidad de los cladóceros *D. magna* de 1d hasta 17 d de exposición haciendo un total de 13 lecturas (Tabla 3). No se observaron diferencias en el porcentaje de mortalidad entre el control y las cinco concentraciones de quinoleína evaluadas para las doce primeras lecturas, del día

1 al día 14. Solo se encontró diferencias estadísticamente significativas entre el control y la concentración más alta de quinoleína de 0,18 ug  $ia \cdot L^{-1}$ , a los 17 días de exposición, siendo éste el valor de LOEC y finalmente 0,072 ug  $ia \cdot L^{-1}$  el valor de NOEC (Tabla 3).

De igual forma al evaluar el efecto crónico de la quinoleína fenólica sobre tres parámetros de crecimiento de *D. magna* (LT, LA y LEC) a 17 d de exposición, solo se observó diferencias significativas en la LA entre el control y 0,072 ug  $ia \cdot L^{-1}$ , siendo este valor de LOEC y por lo tanto la concentración inferior 0,0288 ug  $ia \cdot L^{-1}$ , el valor de NOEC para la quinoleína fenólica (Tabla 4). La LT y la LEC no mostraron diferencias significativas entre el control y las cinco concentraciones ensayadas (Tabla 4).

**Radio entre toxicidad aguda y crónica (RAC):** El RAC mostró para la relación aguda a 48 h de exposición sobre el NOEC mortalidad a 17 d un valor de 57,22, y para la relación aguda sobre el NOEC de LA a 17 d un valor de 143.

**Evaluación del Riesgo Ambiental (ERA):** La ERA nos muestra que la relación  $PEC/PNEC$  para el ensayo agudo sin emplear un factor de aplicación fue de 582 524, y al usar este factor fue 1000 veces mayor. De igual forma la ERA para la relación  $PEC/PNEC$  para el ensayo crónico fue 83333333,33 y al emplear el factor de aplicación fue 100 veces mayor.

## DISCUSIÓN

**Toxicidad aguda:** La concentración letal media de la quinoleína fenólica sobre *D. magna* a 24 h y 48 h de exposición mostró una muy alta sensibilidad a esta sustancia química. La literatura muestra muchos trabajos que evalúan la toxicidad aguda de diferentes compuestos fenólicos sobre la biota acuática como peces (DeGraeve *et al.* 1980, WACCB 2002) y crustáceos (Oksama & Kristoffersson 1979, Devillers 1988, Tišler & Zagorc-Končan 1997, Kim *et al.* 2006, Maleki *et al.* 2007). Una limitante con relación a los valores de  $CL_{50}$  determinados para la quinoleína fenólica es que no se encontraron dentro del rango de las siete concentraciones ensayadas (Tabla 2).

**Toxicidad crónica:** Los parámetros más usados en ensayos crónicos con *D. magna* son la mortalidad, capacidad reproductiva y crecimiento (OECD 1998). Nuestros resultados muestran que uno de los tres parámetros biométricos de crecimiento evaluados en el ensayo crónico con *D. magna* a 17 d de exposición concuerdan con lo señalado por Castiglioni & Collins (2010), quienes al evaluar el efecto de tres concentraciones de un detergente biodegradable sobre la espina caudal, el basípodo de la antena, ancho de la cabeza y largo total encontró que el control presentó en general valores más altos a estos cuatro parámetros.

**Radio entre toxicidad aguda y crónica (RAC):** Nuestros resultados muestran un valor alto de RAC, el cual corresponde a lo indicado para

compuestos polares narcóticos (Roex *et al.* 2000), quienes señalan valores promedios de RAC entre 23,9 a 322.

**Evaluación del Riesgo Ambiental (ERA):** Los resultados señalaron un alto riesgo ambiental al usar la relación PEC / PNEC del producto nematocida quinoleína fenólica en ensayos agudos y crónicos sobre *D. magna* (Yamamoto *et al.* 2007). Estos datos demuestran que la quinoleína fenólica presenta un alto efecto en la biota acuática representada por el nivel trófico al que pertenece *D. magna* y muestra que la sustancia es candidata para una evaluación adicional posterior. El empleo del invertebrado *D. magna* como un método para el pretamizaje de toxicidad de sustancias químicas muestra una alta especificidad y sensibilidad, y es un excelente método para evaluar la toxicidad acuática (Guilhermino *et al.* 2000, Verma 2008).

**Tabla 1.** Características físico-químicas del medio de cultivo ADAM (Aachener Daphnien Medium) empleado en los bioensayos ecotoxicológicos.

Parámetro Físico-químico	Valores
pH	8,15
CE (dS m <sup>-1</sup> )	1,42
Calcio (me L <sup>-1</sup> )	7,42
Magnesio (me L <sup>-1</sup> )	1,13
Potasio (me L <sup>-1</sup> )	0,20
Sodio (me L <sup>-1</sup> )	6,87
Suma de Cationes	15,62
Nitratos (me L <sup>-1</sup> )	0,01
Carbonatos (me L <sup>-1</sup> )	0,03
Bicarbonatos (me L <sup>-1</sup> )	3,02
Sulfatos (me L <sup>-1</sup> )	3,12
Cloruros (me L <sup>-1</sup> )	8,70
Suma de Aniones	14,88
Sodio	43,95
SAR (Relación de Absorción de Sodio)	3,31
Boro (mg L <sup>-1</sup> )	0,30
Fe (mg L <sup>-1</sup> )	0,02
Cu (mg L <sup>-1</sup> )	0,01
Zn (mg L <sup>-1</sup> )	0,05
Mn (mg L <sup>-1</sup> )	0,00

Medio ADAM: 19,9 g de sales obtenidas a partir de agua de mar. 60 L de agua que deben de ser reposadas e hiperoxigenadas durante 24 h. 138 mL de la solución A (Cloruro de Calcio a 117,6 g•L<sup>-1</sup>). 132 mL de la solución B (Bicarbonato de sodio a 25,2 g•L<sup>-1</sup>) y 6 mL de la solución C (Oxido de Selenio a 0,07 g•L<sup>-1</sup>). Los resultados indicados corresponden al promedio de dos análisis de agua. CE = Conductividad eléctrica.

**Tabla 2.** Efecto agudo de la quinoleína fenólica (ia =ingrediente activo) sobre la mortandad (%) de *Daphnia magna* a 24 h y 48 h de exposición. Letras minúsculas iguales en una misma columna indican que los promedios son estadísticamente iguales ( $P > 0,05$  según Tukey).

ug ia·L <sup>-1</sup>	%	
	24 h	48h
0	0a	0a
0,072	0a	11,93a
0,18	3,23a	14,77a
0,22	9,68a	20,45ab
0,44	12,90a	23,33ab
0,88	25,81b	34,66bc
1,75	29,03bc	37,50bc
3,50	35,48c	48,86c

**Tabla 3.** Efecto crónico de la quinoleína fenólica (ia =ingrediente activo) sobre la mortandad (%) de *Daphnia magna* hasta 17 días (d) de exposición. Letras minúsculas iguales en una misma columna indican que los promedios son estadísticamente iguales ( $P > 0,05$  según Tukey). F = Estadístico de Fisher. Sig = Significancia.

ug ia·L <sup>-1</sup>	1d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	10d	11d	12d	13d	14d	17d
0	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a
0,0046	3,33a	6,66a	13,33a	13,79a	10,71a	3,84a	3,84a	3,84a	0a	0a	6,25a	2,18a	21,74a
0,0115	0a	0a	10a	10,34a	14,29a	7,70a	11,54a	11,54a	8,33a	12,50a	12,50a	13,04a	26,09a
0,0288	0a	0a	3,33a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	4,16a	26,09a	26,09a
0,072	0a	0a	6,66a	3,44a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	52,17ab
0,18	0a	3,33a	10a	6,90a	3,58a	0a	0a	0a	0a	0a	4,16a	11,44a	100b
F	1,00	0,84	0,62	0,62	0,66	0,45	0,33	0,24	0,32	0,38	0,21	0,91	9,35
Sig	0,45	0,54	0,68	0,69	0,65	0,80	0,88	0,93	0,88	0,84	0,95	0,50	0,001

**Tabla 4.** Efecto crónico de la quinoleína fenólica (ia =ingrediente activo) sobre el crecimiento [longitud total (LT), longitud de la antena (LA) y longitud de la espina caudal (LE)] de *Daphnia magna* en mm a 17 d de exposición. n = número de organismos medidos en cada concentración de quinoleína fenólica. ND = No determinado por observarse 100% de mortalidad en la concentración 0,18 ug ia·L<sup>-1</sup>. Letras minúsculas iguales en una misma columna indican que los promedios son estadísticamente iguales ( $P > 0,05$  según Tukey). F = Estadístico de Fisher. Sig = Significancia.

ug ia·L <sup>-1</sup>	n	LT	LA	LE
0	11	1,52a	0,86a	0,31a
0,0046	4	1,48a	0,73ab	0,18a
0,0115	13	1,52a	0,73ab	0,25a
0,0288	12	1,43a	0,83a	0,34a
0,072	8	1,35a	0,63b	0,23a
0,18	0	ND	ND	ND
F		1,79	4,30	1,75
Sig		0,14	0,005	0,15

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Biesinger, K.E. & Christensen, G.M. 1972. Effect of various metals on survival, growth, reproduction, and metabolism of *Daphnia magna*. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 29: 1691-1700.
- Bleker, R. 2002. Toxicity of azareenes. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 4, 15-42.
- Boersma, M. 1997. Offspring size and parental fitness in *Daphnia magna*. Evolutionary Ecology, 11: 439-450.
- Calow, P. 1993. *Handbook of ecotoxicology*. Vol. I. Sheffield, UK: Blackwell Science Ltd. 478 p.
- Castiglioni, M. & Collins, P. 2010. Efecto de un detergente biodegradable en agua en la reproducción de *Daphnia magna*. The Biologist (Lima), 8: 43-53.
- Castillo, G. 2004. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. IMTA. México.
- Cushman, R.M. & McKamey, M.I. 1981. A *Chironomus tentans* bioassay for testing synthetic fuel products and effluents, with data on acridine and quinoline. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 26: 601-605.
- DeGraeve, G.M.; Geiger, D.L.; Meyer, J.S. & Bergman, H.L. 1980. Acute and embryolarval toxicity of phenolic compounds to aquatic biota. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 9: 557-568.
- Devillers, J. 1988. Acute toxicity of cresols, xylenols, and trimethylphenols to *Daphnia magna* Straus 1820. The Science of the Total Environment, 76: 79-83.
- Dumont, N.D.; Schuitz, T.W. & Jones, R.D. 1979. Toxicity and teratogenicity of aromatic amines to *Xenopus laevis*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 22: 159-166.
- E H A B S O F T . 2 0 1 1 . E n : <http://www.ehabsoft.com/ldpline/onlinecontrol.htm#Abbott> leído el 22 de diciembre del 2011.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1996. *Ecological effects test guidelines OPPTS 850.1010 Aquatic invertebrate acute toxicity test, Freshwater Daphnids. Prevention, pesticides and toxic Substances (7101)*. EPA 712-C-96-114. April 1996. 10 p.
- Foley, M. & Tilley, L. 1998. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. Pharmacology & Therapeutics, 79: 55-87.
- Fournet, A.; Barrios, A.A.; Muñoz, V.; Hocquemiller, R.; Roblot, R.; Cavé, A.; Richomme, P. & Bruneton, J. 1994. Antiprotozoal activity of quinoline alkaloids isolated from *Galipea longiflora*, a Bolivian plant used as a treatment for cutaneous Leishmaniasis. Phytotherapy Research, 8: 174-178.
- González-Valero, J.F.; Campbell, P.J.; Fritsch, H.J.; Grau, R. & Romijn, K. 2000. Exposure assessment for terrestrial non-target arthropods. Journal of Pest Science, 73: 163-168.
- Guilhermino, L.; Diamantino, T.; Silva, M.C. & Soares, M.V.M. 2000. Acute toxicity test with *Daphnia magna*: an alternative to mammals in the prescreening of chemical toxicity?. Ecotoxicology and Environmental Safety, 46: 357-362.



- Iannacone, J. & Alvaríño, L. 2007. Ecotoxicidad acuática de dos colorantes y de tres antiparasitarios de importancia en acuicultura en *Daphnia magna*. *Ecología Aplicada*, 6: 101-110.
- Iannacone, J. & Alvaríño, L. 2009. Evaluación del riesgo acuático de siete productos farmacéuticos sobre *Daphnia magna*. *Ecología Aplicada*, 8: 71-80.
- Iannacone, J.; Alvaríño, L.; Soto, J.C. & Salcedo, C. 2007a. Efecto toxicológico del "Sachayoco", *Paullinia clavigera* (Sapindaceae) sobre *Daphnia magna* y sobre dos controladores biológicos de plagas agrícolas. *Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2: 15-25.
- Iannacone J.; Onofre, R.; Huanqui S. A.; Giraldo, A. J.; Mamani, P. N.; Miglio, T.M.C. & Alvaríño, F. L. 2007b. Evaluación del riesgo ambiental del insecticida metamidofos en bioensayos con cuatro organismos acuáticos no destinatarios *Agricultura Técnica* (Chile), 67: 126-138.
- Iannacone, J.; Alvaríño, L. & Paredes, C. 2009. Evaluación del riesgo ambiental del arseniato de plomo en bioensayos con ocho organismos no destinatarios. *Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology*, 4: 73-82.
- Kallquist, T.; Grung, M. & Tollefsen, K.E. 2006. Chronic toxicity of 2,4,2', 4'-Tetrabromodiphenil ether on the marine alga *Skeletonema costatum* and the crustacean *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 1657-1662.
- Kim, K.T.; Lee, Y.G. & Kim, S.D. 2006. Combined toxicity of copper and phenol derivatives to *Daphnia magna*: effect of complexation reaction. *Environmental International*, 32: 487-492.
- Kusano, M.; Koshino, H.; Uzawa, J.; Fujioka, S.; Kawano, T. & Kimura, Y. 2000. Nematicidal alkaloids and related compounds produced by the fungus *Penicillium cf. simplicissimum*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64: 2559-2568.
- Maleki, A.; Mahvi, A.H.; Mesdaghinia, A. & Naddafi, K. 2007. Degradation and toxicity reduction of phenol by ultrasound waves. *Bulletin of the Chemical Society of Etiopia*, 21: 33-38.
- Nagase, A.; Kuwahara, Y.; Tominaga, Y. & Sugawara, R. 1982. Nematicidal activity of alylamine against the pine wood nematode *Bursaphelenchus lignicolus*. *Agricultural Biology and Chemistry*, 46: 167-172.
- OECD. 1998. *OECD Guidelines for testing of chemicals. 211. Daphnia magna reproduction test*. 21 p.
- Oksama, M. & Kristoffersson, R. 1979. The toxicity of phenol to *Phoxinus phoxinus*, *Gammarus duebeni*, and *Mesidotea entomon* in brackish water. *Annales Zoologici Fennici*, 16: 209-216.
- Passino, D. & Novak, A.J. 1984. Toxicity of arsenate and DDT to the cladoceran *Bosmina longirostris*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 33: 325-329.
- Persoone, G.; Baudo, R.; Cotman, M.; Blaise, C.; Thompson, K.Cl.; Moreira-Santos, M.; Vollat, B.; Törökne, A. & Han, T. 2009. Review on the acute *Daphnia magna* toxicity test- Evaluation of the sensitivity and the precision of assays performed with organisms from laboratory cultures or hatched from dormant eggs. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 393: 1-29.
- Petzoldt, C. 2010. *Disease Management, Chapter 2*. In: *Integrated Crop & Pest management guidelines for commercial vegetable production*. A Cornell Cooperative Extension Publication. En <http://plantclinic.cornell.edu/> leído el 13 de Octubre del 2010.

- Pieters, B.J. & Liess, M. 2006. Maternal nutritional state determines the sensitivity of *Daphnia magna* offspring to short-term fenvalerate exposure. *Aquatic Toxicology*, 76: 268–277.
- Reynaldi, S.; Duquesne, S.; Jung, K. & Liess, M. 2006. Linking feeding activity and maturation of *Daphnia magna* following short-term exposure to fenvalerate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 1831-1835.
- Roex, E.W.M.; Van Gestel, C.A.M.; Van Wezel, A.P. & Van Straalen, N.M. 2000. Ratios between acute aquatic toxicity and effects on population growth rates in relation to toxicant mode of action. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 685-693.
- Ryan, A.C.; Tomasso, J.R. & Klaine, S.J. 2009. Influence of pH, Hardness, dissolved organic carbon concentration, and dissolved organic matter source on the acute toxicity of copper to *Daphnia magna* in soft waters: implications for the biotic ligand model. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28: 1663-1670.
- Sánchez-Ortíz, J.R.; Sarma, S.S.S. & Nandini, S. 2010. Comparative population growth of *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia pulex* (Cladocera) exposed to zinc toxicity. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 45: 37-41.
- Stephenson, G.L.; Kaushik, N.K. & Solomon, K.R. 1991. Chronic toxicity of a pure and technical grade pentachlorophenol to *Daphnia magna*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 21: 388-394.
- Tišler, T. & Zagorc-Končan, J. 1997. Comparative assessment of toxicity of phenol, formaldehyde, and industrial wastewater to aquatic organisms. *Water, Air, and Soil Pollution*, 97: 315-322.
- Verma, Y. 2008. Acute toxicity assessment of textile dyes and textile and dye industrial effluents using *Daphnia magna* bioassay. *Toxicology and Industrial Health*, 24: 491-500.
- Villarroel, J. 2004. *Alteraciones fisiológicas en el crustáceo Daphnia magna por exposición a plaguicidas*. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia. 223 p.
- WACCB (Water, Air and Climate Change Branch). 2002. *Ambient working water quality guidelines for phenols*. Prepared pursuant to Section 2(e) of the Environment Management Act, 1981. Summary Report, April 19, 2002.
- Yamamoto, H.; Nakamura, Y.; Nakamura, Y., Kitani, C.; Imari, T.; Sekizawa, J.; Takao, Y.; Yamashita, N.; Hirai, N.; Oda, S. & Tatarazako, N. 2007. Initial ecological risk assessment of eight selected human pharmaceuticals in Japan. *Environmental Science*, 14: 177-193.
- Zanatta, F.; Gandolfi, R.B.; Lemos, M.; Ticona, J.C.; Gimenez, A.; Clasen, B.K.; Cechinel Filho, V. & de Andrade, S.F. 2009. Gastroprotective activity of alkaloid extract and 2-phenylquinoline obtained from the bark of *Galipea longiflora* Krause (Rutaceae). *Chemical and Biological Interaction*, 180: 312-317.

Received January 04, 2012.

Accepted April 11, 2012.