

The Biologist
(Lima)**ORIGINAL ARTICLE /ARTÍCULO ORIGINAL*****HYDRA VULGARIS* PALLAS, 1766 (HYDROZOA: HYDRIDAE) AS BIOINDICATOR OF THE WATER QUALITY OF THE RIVER CHILI, AREQUIPA, PERU*****HYDRA VULGARIS* PALLAS, 1766 (HYDROZOA: HYDRIDAE) COMO BIOINDICADOR DE LA CALIDAD DE AGUAS DEL RÍO CHILI, AREQUIPA, PERÚ**Ronald Huarachi¹ & Rosaura Gonzalez¹

¹Laboratorio de Biología Acuática, Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional de San Agustín (UNSA), Av. Alcides Carrión s/n, Arequipa, Perú.
E-mail: biologo18_19@hotmail.com

The Biologist (Lima), 2012, 10(2), jul-dec: 125-137.

ABSTRACT

The aim of this study was to use *Hydra vulgaris* Pallas, 1766 (Hydrozoa: Hydridae) as a bioindicator of water quality of the Chili River, Arequipa, Peru. The freshwater hydra were collected in the spring "Ojo del Milagro", Characato District, Arequipa, Peru. *H. vulgaris* was cultivated under standardized conditions and were fed *Artemia* sp. $K_2Cr_2O_7$ was used as a positive control and as a reference toxin. Acute toxicity and morphological changes of *H. vulgaris* were evaluated on Tiabaya and Tingo, sampling points of the Chili River. The LC_{50} (median lethal concentration) showed: Tingo (LC_{50} -96h = 135.95% classifying it as non-toxic) and Tiabaya (LC_{50} -24h = 61.83%, classifying it as moderately toxic; LC_{50} -48h = 44.19% and LC_{50} -72h = 38.28% classifying them as toxic; LC_{50} -96h = 21.44% rating it as very toxic). Significant differences in the morphological changes of *H. vulgaris* were observed with regard to different concentrations and exposure time in waters sampled from Tingo from 48 h to 96 h and in Tiabaya, significant differences in morphological changes from 24 h to 96 h exposure. The results of the physicochemical parameters of the Chili River were compared with the Peruvian National Standards for Environmental Quality (ECA) for water (categories 3 and 4) and recorded high values of biochemical oxygen demand BOD_5 , NH_4 and PO_4 , and low dissolved oxygen OD values for Tiabaya. In Tingo, NH_4 and phosphate were high. In Tiabaya, water was considered more toxic than at Tingo.

Keywords: bioindicator, bioassay, quality, Environmental quality standard, *Hydra*.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue usar a *Hydra vulgaris* Pallas, 1766 (Hydrozoa: Hydridae) como bioindicador de calidad de aguas del río Chili, Arequipa, Perú. Las hidras de agua dulce fueron colectadas en el manantial "Ojo del Milagro", Distrito de Characato, Arequipa, Perú. *H. vulgaris* se cultivó bajo condiciones estandarizadas y fue alimentada con nauplios de *Artemia* sp. Se empleó como control positivo y como tóxico de referencia al $K_2Cr_2O_7$. Se evaluó la toxicidad aguda y cambios morfológicos de *H. vulgaris* en Tingo y Tiabaya, puntos de muestreo del río Chili. La CL_{50} (Concentración Letal Media) mostró: Tingo (CL_{50} -96h= 135,95% clasificándolo como no tóxico) y Tiabaya (CL_{50} -24h= 61,83%, clasificándolo como moderadamente tóxico; CL_{50} -48h= 44,19% y CL_{50} -72h= 38,28% clasificándolos como tóxicos; CL_{50} -96h= 21,44% clasificándolo como muy tóxico). Se observaron diferencias significativas en los cambios morfológicos de *H. vulgaris* con respecto a exposición de diferentes concentraciones y tiempo en las aguas muestreadas de Tingo desde las 48 h hasta las 96 h y en Tiabaya se observaron diferencias significativas en los cambios morfológicos desde las 24 h hasta las 96 h de exposición. Los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos del río Chili, se compararon con los Estándares Nacionales Peruanos de Calidad Ambiental (ECA) para el agua (categorías 3 y 4) y registraron valores altos de Demanda Bioquímica de Oxígeno DBO_5 , NH_4 y PO_4 , y valores bajos de Oxígeno Disuelto OD para Tiabaya. En Tingo, NH_4 y fosfatos fueron altos. En Tiabaya, el agua fue considerada más tóxica que Tingo.

Palabras clave: bioindicador, bioensayo, calidad, Estándar de calidad ambiental, *Hydra*.

INTRODUCCIÓN

Hydra vulgaris Pallas, 1766 (Hydrozoa: Hydridae) "Hydra de agua dulce" es empleada como un organismo de ensayo por la facilidad de crianza en laboratorio, rápida reproducción, su estructura primaria (ectodermo, mesoglea y endodermo) que favorece el intercambio intra e intercelular y su potencial para la localización de compuestos químicos, así como cambios morfológicos reconocibles bajo condiciones crecientes de toxicidad (Karntanut & Pascoe 2000, Castillo 2004). La prueba de la Hydra de agua dulce, ahora se utiliza para evaluar el potencial tóxico de muestras de agua en América, África, Asia y Europa (Vasseur & Pachura 2006, Quinn *et al.* 2009, EC 2010, Demetrio *et al.* 2012).

En las pruebas de toxicidad con diferentes especies de *Hydra*, los organismos son

expuestos a un compuesto tóxico o a una muestra de acuosa problema (Pascoe *et al.* 2003, Arkhipchuk *et al.* 2006, Bruges *et al.* 2008). Durante el ensayo de 96 h, diariamente se hace un examen microscópico y se registran los cambios fenotípicos (Quinn *et al.* 2009). La exposición de estos pólipos a compuestos tóxicos da lugar a una serie de alteraciones morfológicas: tentáculos con bulbos o tentáculos cortos (efectos reversibles subletales) y estado de tulipán o desintegrado (efectos irreversibles letales) (Quinn *et al.* 2008, 2009). Los resultados de las pruebas permiten la estimación de la Concentración Letal Media (CL_{50}) y de la Concentración efectiva media (CE_{50}) (Castillo 2004, Blaise *et al.* 2005, Pachura-Bouchet 2006, Quinn *et al.* 2009).

La cuenca del Río Chili, ubicada al suroeste del Perú, es parte del desierto costero peruano-chileno. Arequipa presenta uno de los desiertos

más secos del planeta, el cual va desde las altas cumbres de la cordillera occidental hasta su desembocadura en Quilca en el Océano Pacífico. Este paisaje de aridez extrema sólo es interrumpido por los ríos que corren de Este a Oeste, llevando las aguas que vienen de la cordillera occidental. Por lo tanto, la cuenca del Chili - Vitor - Quilca tiene la condición de "oasis fluvial", porque este río proporciona aguas para todas formas de vida y para todos los usos de la cuenca (Jiménez *et al.* 2010, Gómez 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de *Hydra vulgaris*

Las Hydras para su cultivo y uso como bioensayo fueron colectadas en las aguas de un arroyo proveniente de los manantiales "Ojo del Milagro", ubicado en la localidad de Cerrillo, distrito de Characato, situado al sudeste de la provincia de Arequipa, Perú, a una distancia aproximada de 10 km del centro de la ciudad (71°27'43,3" LO, 16°28'16,6" LS; 2550 msnm). Según el Instituto Geofísico de la Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa-Perú, la temperatura a la sombra media mensual en esta zona durante enero del 2011 fue de 17,8°C y la precipitación acumulada mensual fue de 57,22 mm; mientras que la temperatura a la sombra media mensual de febrero del 2011 fue de 17,9°C y la precipitación acumulada mensual fue de 174,21 mm.

Cultivo y mantenimiento de *H. vulgaris*

Se realizaron en el Laboratorio de Biología Acuática del Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional de San Agustín (UNSA), Arequipa, Perú, entre enero a febrero del 2011.

Los reactivos utilizados para el cultivo y mantenimiento de *H. vulgaris* son indicados en la Tabla 1. Para la preparación del medio se disolvió inicialmente los compuestos

indicados en la Tabla 1 en un L de agua, posteriormente se colocó la solución en un recipiente de polipropileno, y se completó a 20 L con agua destilada, el cual fue purificado filtrando con carbón activado, grava y algodón antes de preparar el medio de cultivo. El pH fue $7,0 \pm 0,1$, y se ajustó con una solución de NaOH o HCl 1N. El volumen preparado se almacenó a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) y sirvió para proveer medio fresco para el cultivo (Castillo 2004). Para el cultivo masivo de *H. vulgaris* se utilizaron tres recipientes circulares de vidrio de fondo plano de aproximadamente 20 cm de diámetro. Los individuos se mantuvieron en un volumen de medio suficiente para llenar 2 o 3 cm de altura del recipiente. La temperatura del cultivo fue 20 ± 2 °C, bajo una intensidad luminosa de 800 lux aproximadamente, y un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad (Castillo 2004).

Bioensayos ecotoxicológicos

Se procedió a preparar la muestra problema, filtrando un volumen de 100 mL, a través de un papel filtro (marca Whatman y porosidad semilento), luego se le añadió 29,4 mg de CaCl₂-H₂O y 22 mg de N-tris. A esta muestra no se le añadió EDTA. Una vez obtenida la muestra acuosa se procedió a preparar las concentraciones para el bioensayo.

Se realizó una prueba de toxicidad a 96 h de exposición empleando como control positivo y como tóxico de referencia al K₂Cr₂O₇, con siete concentraciones: 0,156; 0,3125; 0,625; 1,25; 2,5; 5 y 10 mg·L⁻¹ y un control negativo.

Los dos puntos de muestreo de agua en el río Chili, Arequipa fueron: (1) Tingo, que se localiza entre los 71°33'49" LO y 16°25'47" LS, a 2233 msnm, y (2) Tiabaya, que se ubica entre los 71°35'39" LO y 16°27'25" LS, a 2134 msnm.

Se realizaron bioensayos ecotoxicológicos (Tingo y Tiabaya), de tipo estático, con el

siguiente diseño experimental: siete concentraciones por bioensayo; tres réplicas, exposición de 13 individuos en cada unidad de muestreo con un total de 312 *H. vulgaris* por bioensayo. Las concentraciones fueron expresadas en porcentajes de volumen al 100%, 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56% y un control negativo consistente en agua de cultivo sin EDTA. La unidad de muestra para los bioensayos fueron placas Petri de 50 mm de diámetro x 15 mm de alto colocando en cada placa 10 mL de solución.

A las mismas concentraciones expresadas en porcentajes de volumen de agua se evaluaron los cambios morfológicos de *H. vulgaris*. Estos cambios fueron: tentáculos con bulbos y tentáculos cortos (efectos subletales) y tulipán y desintegrado (efecto letal) (Fig. 1).

Se usó el método Probit para la determinación de los valores de la Concentración Letal Media (CL_{50}). El Chi-cuadrado se usó para observar diferencias significativas en cambios morfológicos de *H. vulgaris* a las 24 h, 48 h, 72 h y 96 h de exposición. Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 17,0 para el cálculo de los estadísticos descriptivos e inferenciales.

En función de los valores de toxicidad obtenidos en cada bioensayo (CL_{50}) se atribuyó una categoría toxicológica, siguiendo los lineamientos de Bulich (1982) y Coleman & Quershi (1985) (Tabla 2). Los resultados de la CL_{50} se transformaron a Unidades de Toxicidad (UT) (EC 2010). Según la fórmula: $UT = 100\% / CL_{50}\%$. Donde: UT = Unidades de Toxicidad. $CL_{50}\%$ = Concentración Letal Media (Castro *et al.* 2002).

Parámetros Físico Químicos

La toma de las muestras de agua fue superficial a unos 15 cm por debajo de la superficie del agua. El pH se midió *in situ* utilizando un pHmetro digital de bolsillo marca Hanna. Para las

concentraciones de nitrógeno amoniacal ($mg \cdot L^{-1}$) se determinó *in situ* por el método de colorimetría utilizando el kit individual de laboratorio FF1A marca HACH, y con la ayuda de los datos tomados de pH y temperatura se convirtieron a datos de concentración de amoníaco ($mg \cdot L^{-1}$). Para la medición de fosfatos ($mg \cdot L^{-1}$) se determinó *in situ* también por el método de colorimetría utilizando el kit individual de laboratorio HI 3833 marca Hanna. Se tomaron muestras de agua que se conservaron a 5° C, para su procesamiento posterior en el laboratorio para la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno DBO_5 ($mg \cdot L^{-1}$) a 20° C, las muestras fueron analizadas en el Laboratorio SERVILAB de la Facultad de Ciencias Naturales y Formales de la Universidad Nacional de UNSA. Las mediciones del oxígeno disuelto (OD) se hicieron por el Método de Winkler, la Conductividad Eléctrica (CE) y Sólidos Totales Disueltos (STS) se midieron con un conductímetro portátil marca Hanna en el laboratorio de Biología Acuática del Departamento Académico de Biología, UNSA. Las mediciones de Cromo hexavalente se hicieron por el método 8023: 1,5 Di Phenylcarbohydrazide. La temperatura se midió con un termómetro digital con aproximación de 0,1 °C. Para medir la transparencia se usó el disco de Secchi sumergiéndolo en el agua hasta una profundidad en la que desaparezca de la visión normal con un ángulo aproximado 90° de la superficie del agua, midiéndola en cm a la que desaparece el disco Secchi, esta medida sólo es un valor referencial ya que no presenta valores límites (Mafla 2005).

Los valores obtenidos para cada uno de los parámetros físico químicos fueron verificados si sobrepasaban el valor límite establecido por las categorías 3 (riego de vegetales de tallo bajo y alto; bebida de animales) y 4 (conservación del medio acuático) de los ECA (Estándares Nacionales Peruanos de Calidad

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ambiental) para aguas.

Se observó la siguiente secuencia de CL_{50} de mayor a menor toxicidad aguda para el $K_2Cr_2O_7$ sobre *H. vulgaris*: $CL_{50-96h} = 14,56 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} > CL_{50-72h} = 31,42 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} > CL_{50-48h} > 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} > CL_{50-24h} > 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

La secuencia de CL_{50} de mayor a menor toxicidad aguda de las aguas muestreadas del río Chili en el Puente Tingo y Puente Tiabaya sobre *H. vulgaris* fue: CL_{50-96h} (Tiabaya) = 21,44% > CL_{50-72h} (Tiabaya) = 38,28% > CL_{50-48h} (Tiabaya) = 44,19% > CL_{50-24h} (Tiabaya) = 61,83% > CL_{50-96h} (Tingo) = 135,95% (Tablas 3 y 4).

Los cambios morfológicos (normal, tentáculos con bulbos, tentáculos cortos, tulipán y desintegrado) de *H. vulgaris* inducidos en bioensayos con $K_2Cr_2O_7$ y con aguas muestreadas del río Chili en el Puente Tingo y Puente Tiabaya, evidenciaron una respuesta a la concentración y en dependencia del tiempo de exposición. Los valores del Chi-cuadrado mostraron diferencias significativas ($P < 0,01$) en los cambios morfológicos de *H. vulgaris* con $K_2Cr_2O_7$ y en las aguas muestreadas del Puente Tingo desde las 48 h hasta las 96 h, y en los bioensayos con aguas muestreadas del Puente Tiabaya se observaron diferencias significativas ($P < 0,01$) desde las 24 h hasta las 96 h (Tablas 5, 6 y 7).

La CL_{50} y las UT de Tiabaya sobre *H. vulgaris*

mostraron que es muy tóxica a las 96 h, tóxica a las 72 h y 48 h, y moderadamente tóxica a las 24 h; mientras que CL_{50} de los bioensayos del punto de muestreo Tingo determinaron que no son tóxicas a las 96 h (Tabla 8).

Los valores más críticos registrados a nivel de los dos puntos de muestreo del río Chili corresponden al punto de muestreo de Tiabaya donde el DBO_5 sobrepasa el valor límite establecido por las categorías 3 y 4 de los ECA. El oxígeno disuelto, NH_4 y PO_4 registraron una concentración que se encontró fuera del valor límite establecido por los ECA, dichas alteraciones en el puente Tiabaya se debe a la contaminación de aguas residuales provenientes de las fuentes de vertimiento en Alata y a las precipitaciones pluviales que se dieron en esas fechas (Tablas 9). En el caso de Tingo solo presentó valores que sobrepasaron los ECA para NH_4 y PO_4 para la categoría 4. El resto de parámetros ambientales no sobrepasaron los ECA para Tingo y Tiabaya (Tablas 9).

El pólipo cnidario *Hydra* es un modelo versátil (Reiter *et al.* 2012), que puede ser empleado como bioindicador de la calidad de aguas del río Chili, Arequipa, Perú. En base al valor de toxicidad aguda CL_{50} y a los cambios progresivos morfológicos de *H. vulgaris* (Karntanut & Pascoe 2000, 2002), se evidencia la toxicidad de las muestras de agua de Tingo y Tiabaya, Arequipa. Los valores de toxicidad obtenidos en Tiabaya están relacionados con varios parámetros físico químicos que sobrepasan los ECA según la legislación

Tabla 1. Reactivos utilizados en la preparación del medio de cultivo de *Hydra* (Castillo 2004).

CaCl ₂ -H ₂ O	2,94 g
N-tris (hydroximetil) metil 1-2 aminoetanosulfónico, Buffer TES	2,2 g
Ácido etilén-diamino - tetraacético (EDTA)	0,080 g
Agua destilada	20 L

Tabla 2. Categorías toxicológicas de las muestras acuosas según los resultados obtenidos empleando los bioensayos ecotoxicológicos con *H. vulgaris* (Castro *et al.* 2002).

CL ₅₀ %	Categoría de Toxicidad	Categoría	Unidades de Toxicidad (UT)
< 25	Muy Tóxica	1	>4,00
25 – 50	Tóxica	2	2,0 – 3,99
51 -75	Moderadamente Tóxica	3	1,33 – 1,99
- 100	Levemente Tóxica	4	1,01 – 1,32
>100	No Tóxica	5	<1,00

Tabla 3. Mortalidad de *H. vulgaris* y concentración letal media (CL₅₀ %) por efecto de las aguas colectadas de Tingo en el río Chili – Arequipa, Perú.

Tiempo (h)	CL ₅₀ (%)	Concentraciones (%)							
		0	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100
		Mortalidad (%)							
24	>100	0	0	0	0	0	0	0	0
48	>100	0	0	0	0	0	0	0	0
72	>100	0	0	0	0	0	0	0	5
96	135,95	0	0	0	0	3	8	15	41

Tabla 4. Mortalidad de *H. vulgaris* y concentración letal media (CL₅₀ %) por efecto de las aguas colectadas de Tiabaya en el río Chili – Arequipa, Perú.

Tiempo (h)	CL ₅₀ (%)	Concentraciones (%)							
		0	1,56	3,12	6,25	12,5	25	50	100
		Mortalidad (%)							
24	61,83	0	0	0	0	0	0	13	100
48	44,19	0	0	0	3	0	3	64	100
72	38,28	0	3	0	3	5	5	85	100
96	21,44	0	3	0	5	21	51	100	100

Tabla 5. Registro porcentual de cambios morfológicos de *H. vulgaris* por efecto a la exposición a diferentes concentraciones y tiempos de exposición al Bicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$.

Concentración (mg·L ⁻¹)	Cambios morfológicos progresivos										Valor P	
	Normal	Bulbo	Corto	Tulipán	Desintegrado	Total						
	Nº	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	2	
24 h												
0	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
0,156	38	0	0	1	2,56	0	0	0	0	39		
0,3125	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
0,625	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
1,25	38	0	0	1	2,56	0	0	0	0	39	12,05	p >0,05
2,5	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
5,0	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
10,0	37	2	5,12	1	2,56	0	0	0	0	39		
48 h												
0	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
0,156	38	0	0	1	2,56	0	0	0	0	39		
0,3125	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
0,625	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
1,25	37	0	0	2	5,12	0	0	0	0	39	157,21	p<0,01
2,5	38	0	0	1	2,56	0	0	0	0	39		
5,0	35	4	10,25	2	5,12	0	0	0	0	39		
10,0	15	24	61,53	21	53,84	0	0	0	0	39		
72 h												
0	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
0,156	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
0,3125	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
0,625	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
1,25	37	2	5,12	1	2,56	0	0	0	0	39	271,07	p<0,01
2,5	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
5,0	32	7	17,94	5	12,82	0	0	0	0	39		
10,0	0	39	100	4	10,25	3	7,69	1	2,56	39		
96 h												
0	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
0,156	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
0,3125	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
0,625	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
1,25	38	0	0	1	2,56	0	0	0	0	39	385,58	p<0,01
2,5	39	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
5,0	5	34	86,74	30	76,92	27	69,23	0	0	39		
10,0	0	39	100	28	71,79	11	28,20	1	2,56	39		

Tabla 6. Registro porcentual de cambios morfológicos de *H. vulgaris* por efecto a la exposición de diferentes concentraciones y tiempos de exposición en bioensayos con aguas de Tingo, Arequipa, Perú.

Concentración	Cambios morfológicos progresivos										²	Valor P		
	%	Normal		Bulbo		Corto		Tulipán		Desintegrado			Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
24 h														
0	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
1,56	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
3,12	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
6,25	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
12,5	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	0,00 P>0,05
25	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
50	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
100	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
48 h														
0	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
1,56	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
3,12	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
6,25	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
12,5	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	57,47 P<0,01
25	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
50	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
100	31		8	20,51	1	2,56	0	0	0	0	0	0	39	
72 h														
0	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
1,56	38		0	0	1	2,56	0	0	0	0	0	0	39	
3,12	38		0	0	1	2,56	0	0	0	0	0	0	39	
6,25	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
12,5	37		2	5,12	0	0	1	2,56	0	0	0	0	39	59,52 P<0,01
25	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
50	32		7	17,94	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
100	28		11	28,20	3	7,69	2	5,12	0	0	0	0	39	
96 h														
0	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
1,56	38		0	0	1	2,56	0	0	0	0	0	0	39	
3,12	39		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39	
6,25	36		0	0	3	7,69	0	0	0	0	0	0	39	
12,5	33		6	15,38	4	10,25	2	5,12	0	0	0	0	39	117,92 P<0,01
25	31		8	20,51	4	10,25	3	7,69	0	0	0	0	39	
50	25		14	35,89	9	23,07	6	15,38	1	2,56	0	0	39	
100	13		26	71,79	22	56,41	16	41,02	1	2,56	0	0	39	

Tabla 7. Registro Porcentual de Cambios Morfológicos de *H. vulgaris* por efecto a la exposición a diferentes concentraciones y tiempo de exposición en bioensayos con aguas de Tiabaya – Arequipa, Perú.

Concentración	Cambios morfológicos progresivos												Valor P
	%	Normal		Bulbo Corto		Tulipán		Desintegrado		Total		2	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
24 h													
0	39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
1,56	26	13	33,33	1	2,56	0	0	0	0	0	39		
3,125	38	1	2,56	0	0	0	0	0	0	0	39		
6,25	34	5	12,82	2	5,12	0	0	0	0	0	39		
12,5	37	2	5,12	1	2,56	0	0	0	0	0	39	389,82 P<0,01	
25	38	1	2,56	0	0	0	0	0	0	0	39		
50	25	14	35,89	11	28,20	5	12,82	0	0	0	39		
100	0	39	100	39	100	39	100	18	5,77	39			
48 h													
0	39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
1,56	28	11	3,51	0	0	0	0	0	0	0	39		
3,125	38	1	2,56	0	0	0	0	0	0	0	39		
6,25	35	4	0,64	2	5,12	1	2,56	0	0	0	39		
12,5	33	7	17,94	1	2,56	0	0	0	0	0	39	732,17 P<0,01	
25	3	36	92,30	1	2,56	1	2,56	0	0	0	39		
50	0	39	100	35	3,19	25	64,10	0	0	0	39		
100	0	39	100	39	100	39	100	37	94,87	39			
72 h													
0	39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
1,56	35	4	10,25	1	2,56	0	0	0	0	0	39		
3,125	36	3	7,69	1	2,56	0	0	0	0	0	39		
6,25	34	5	12,82	1	2,56	1	2,56	0	0	0	39		
12,5	18	21	53,84	3	7,69	2	5,12	0	0	0	39	683,72 P<0,01	
25	0	39	100	12	30,76	2	5,12	0	0	0	39		
50	0	39	100	39	100	35	10,58	2	5,12	0	39		
100	0	39	100	39	100	39	100	39	100	39			
96 h													
0	39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39		
1,56	36	3	0,64	1	2,56	1	2,56	0	0	0	39		
3,125	25	14	35,89	1	2,56	0	0	0	0	0	39		
6,25	0	39	100	4	10,25	2	5,12	0	0	0	39		
12,5	0	39	100	28	71,79	8	20,51	0	0	0	39	799,77 P<0,01	
25	0	39	100	39	100	20	51,28	0	0	0	39		
50	0	39	100	39	100	39	100	13	33,33	0	39		
100	0	39	100	39	100	39	100	39	100	39			

Tabla 8. Concentración letal media (CL₅₀ %), Categorías toxicológicas y Unidades de Toxicidad (UT) para los resultados de los bioensayo con *H. vulgaris* a diferentes tiempos de exposición en función a los dos puntos de muestreo de aguas.

Puntos de Muestreo	Tiempo (h)	CL ₅₀ %	Categorías toxicológicas	Unidades de toxicidad (UT)
Puente Tingo	96	135,95	5	0,74
Puente Tiabaya	24	61,83	3	1,62
Puente Tiabaya	48	44,19	2	2,26
Puente Tiabaya	72	38,28	2	2,61
Puente Tiabaya	96	21,44	1	4,66

1= Muy Tóxico. 2 = Tóxico. 3 = Moderadamente Tóxico. 4 = Levemente Tóxico. 5 = No Tóxico

Tabla 9. Parámetros físico químicos del agua de los dos puntos de muestreo de aguas en Río Chili, Arequipa, Perú 2011 y comparación con los Estándares de calidad ambiental peruanos (ECA).

Parámetro	Análisis	Unidad	Tingo	Tiabaya	Categoría 3*		Categoría 4*
					riego de	vegetales de	bebida de
					tallo bajo y alto	animales	Medio acuático
Transparencia	<i>in situ</i>	cm	30,3	19,28	-	-	-
Temperatura	<i>in situ</i>	°C	15,98	19,52	-	-	-
pH	<i>in situ</i>		8,16	7,2	6,5 -8,5	6,5	8,5
OD	Laboratorio	mg·L	5,6	1,89	>4	>5	>5
N-NH ₄	Laboratorio	mg·L	0,85	49,17	-	-	0,02
PO ₄ ³⁻	Laboratorio	mg·L	0,9	4,9	1	-	0,5
DBO ₅	Laboratorio	mg·L	6,34	581,4	15	<15	<10
CE	Laboratorio	uS·cm ⁻¹	413	563	<2000	<5000	1000
TDS	Laboratorio	ppm	289	394	-	-	500
Cr ⁶	Laboratorio	mg·L ⁻¹	0,04	0,01	0,1	1	0,05

*Estándares Nacionales Peruanos de Calidad Ambiental (ECA) para aguas.

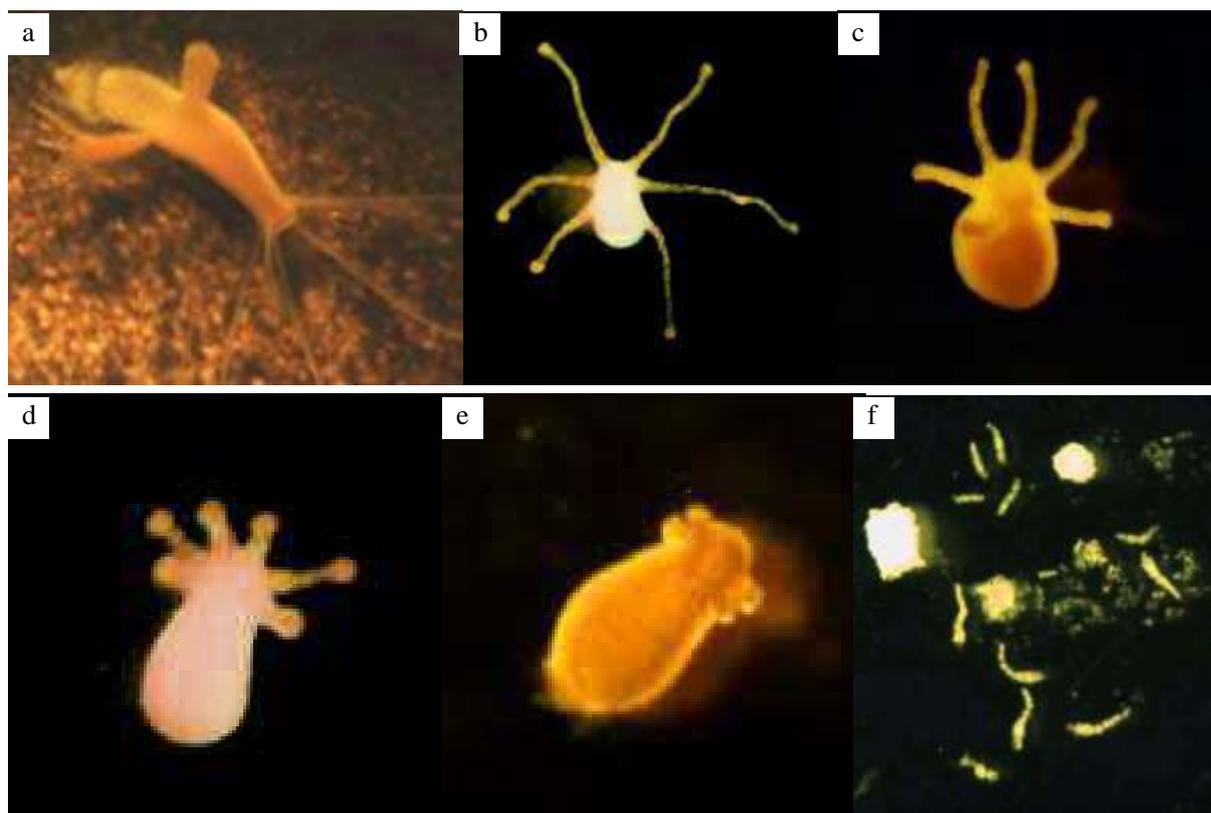


Figura 1. Morfologías sucesivas de una *Hydra* adulta colocada en un medio tóxico. Evolución de estados a partir de un estado Normal (a) hasta la desintegración; pasando por el estado de tentáculos con bulbos (b) Tentáculos cortos fase precoz (c); Tentáculos cortos fase tardía (d); tulipán (e) y desintegrado (F) (Pachura- Bouchet *et al.* 2006).

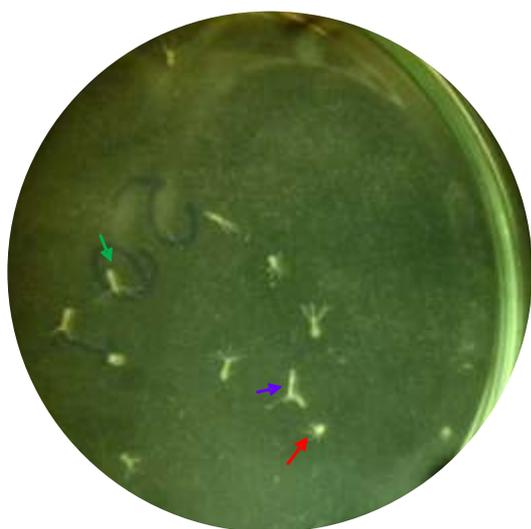


Figura 2. Cambios morfológicos en el bioensayo con *Hydra vulgaris* del punto de muestreo de Tiabaya al 50% de concentración. Se observan individuos con tentáculos cortos (rojo), individuos que presentan tentáculos con bulbos (violeta) e individuos en estado normal (verde) a 24 h de exposición.

AGRADECIMIENTOS

A Herbert Lazo Rodríguez, Cesar Bernabé Ortiz y Abraham Calla Paredes por el apoyo que me brindaron en esta investigación y amigos de Biología: Tito Cuadros, Norbert Tejada, Alex Dueñas, Marco Ríos, Juan Pablo Portilla, Raúl Lima, Edwin Bustamante, Erick Huamani, Yvonne Medina y Roberto Fernández por la ayuda que me brindaron durante la realización de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arkhipchuk, V.V.; Blaise, C. & Malinovskaya, M.V. 2006. Use of hydra for chronic toxicity assessment of waters intended for human consumption. *Environmental Pollution*, 142: 200-211.
- Blaise, C.; Cambon, J.; Pachura, S. & Vasseur, P. 2005. 4 – Nonylphenol induced toxicity and apoptosis in *Hydra attenuata*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24: 42-47.
- Bruges, K. & Reza, M.T.R. 2008. Evaluación preliminar de toxicidad, genotoxicidad y actividad antimicrobiana de *Sida rhombifolia* L. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 9: 5-13.
- Bulich A.A. 1982. A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. *Process Biochemical*, 17:45-47.
- Castro, S.; Espinola, J.; Míguas, D. & Viana, F. 2002. *Los bioensayos como herramienta de evaluación de la toxicidad de los efluentes industriales en Uruguay*. Informe final, International Development Research Centre (IDRC), File 04464, Canadá.
- Castillo, G. 2004. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. IMTA. México. 188 p.
- Coleman, R.N. & Qureshi, A.A.Q. 1985. Microtox and *Spirillum volutans* tests for assessing toxicity of environmental samples. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 35: 443-451.
- Demetrio, P.M.; Rossini, GDB, Bonnetto, C.A. & Ronco, A.E. 2012. Effect of pesticide formulations and active ingredients on the coelenterate *Hydra attenuata* (Pallas, 1766). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88: 15-19.
- EC (Environment Canadá). 2010. *The freshwater Hydra (Hydra attenuata): Useful in Ecotoxicology*. En: <http://www.ec.gc.ca/stl/default.asp?lang=En&n=91EAEB1F-1>. Leído el 24 de Diciembre del 2012.
- Gómez, J. 2011. *Emergencia ambiental de río Chilli*. En: <http://jfgomezu.blogspot.com/2011/01/emergencia-ambiental-del-rio-chili.html>. Leído el 24 de Diciembre del 2012.
- Jiménez, P.; Amézaga, J.; Rötting, T. & Guzman, E. 2010. *El río Chili: Cuenca Árida con Presencia Minera*. IRECA-UNSA/Labor, Arequipa. 40 p.
- Karntanut, W. & Pascoe, D. 2000. A comparison of methods for measuring acute toxicity to *Hydra vulgaris*. *Chemosphere*, 41: 1543-1548.
- Karntanut, W. & Pascoe, D. 2002. The toxicity of copper, cadmium and zinc to four different *Hydra* (Cnidaria: Hydrozoa). *Chemosphere*, 47: 1059-1064.
- Mafla, M. 2005. *Guía para evaluaciones ecológicas rápidas con indicadores biológicos en ríos de tamaño mediano Talamanca - Costa Rica*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba - Costa Rica. Parte I. En: http://www.catie.ac.cr/CatieSE4/BancoMedios/Documentos%20PDF/guia_evaluaciones.pdf. Leído el 24 de Diciembre del 2012.
- Pachura-Bouchet, S.; Blaise, C. & Vasseur, P. 2006. Toxicity of nonylphenol on the cnidarian *Hydra attenuata* and environmental risk assessment. *Environmental Toxicology*, 21: 388-394.
- Pascoe, D.; Karntanut, W. & Müller, C.T. 2003. Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere*, 51: 521-528.
- Quinn, B.; Gagné, F. & Blaise, C. 2008. An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and

- their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of Total Environment*, 389: 306-314.
- Quinn, B.; Gagné, F. & Blaise, C. 2009. Evaluation of the acute, chronic and teratogenic effects of a mixture of eleven pharmaceuticals on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of Total Environment*, 407: 1072-1079.
- Reiter, S.; Crescenti, M.; Galliot, B. & Buzgariu, W. 2012. *Hydra*, a versatile model to study the homeostatic and developmental functions of cell death. *The International Journal of Developmental Biology*, 56: 593-604.
- Vasseur, P. & Pachura, S. 2006. A *Hydra* model to evaluate developmental impact. *Environment, Risque & Santé*, 5: 280-283.

Received June 29, 2012.
Accepted December 28, 2012.