

## TOXICIDAD AGUDA DEL HIDRÓXIDO DE SODIO SOBRE *MOINA MACROCOPA* (CRUSTÁCEA, BRANCHIOPODA)

### ACUTE TOXICITY OF SODIUM HYDROXIDE ON *MOINA MACROCOPA* (CRUSTACEA, BRANCHIOPODA)

César A. Mac-Quhae,<sup>1</sup> César Romero<sup>2</sup> y Danny A. Morales<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Limnología, Estación de Investigaciones Hidrobiológicas de Guayana, Fundación La Salle de Ciencias Naturales. San Félix, estado Bolívar, Venezuela. Fax: (58) (286) 9311045.

E-mail: cesarmac@hotmail.com

<sup>2</sup>Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar, Universidad de Oriente, Núcleo Nueva Esparta. Isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

<sup>3</sup>Superintendencia de Ambiente e Higiene de la Corporación Venezolana de Guayana Bauxilum - Planta. Puerto Ordaz, estado Bolívar, Venezuela.

#### RESUMEN

Se determinó la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del hidróxido de sodio en el cladócero de la especie *Moina macrocopa* mediante bioensayos de toxicidad aguda. Se utilizaron neonatos  $\leq 24$  h de edad cultivados en laboratorio, los cuales fueron expuestos a cinco concentraciones de hidróxido de sodio en una solución preparada de agua sintética dura (160 - 180 mg L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>) y en agua del río Orinoco (9,9 mg L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>). Los ensayos se hicieron sin renovación, aireación, ni alimento durante un período de 48 h. Las CL<sub>50</sub> - 48 h obtenidas fueron 25,64 mg L<sup>-1</sup> y 21,61 mg L<sup>-1</sup>, para el agua sintética dura y agua del río Orinoco, respectivamente, observándose una mayor toxicidad en el medio natural que en el medio preparado.

**Palabras clave:** bioensayo, cladóceros, *Moina macrocopa*, hidróxido de sodio, toxicidad

#### ABSTRACT

The mean lethal concentration of sodium hydroxide was determined, in cladocerans of *Moina macrocopa* species, using acute toxicity bioassay. Newborns  $\leq 24$  h from laboratory cultures were exposed to five concentrations of sodium hydroxide, in a hard synthetic water solution (160 - 180 mg L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>) and in Orinoco river water (9,9 mg L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>). Bioassays were performed without renovation, air nor food during 48 hours. The LC<sub>50</sub> - 48 h was 25.64 mg L<sup>-1</sup> for synthetic water and 21.61 mg L<sup>-1</sup> for the Orinoco river water, showing a higher toxicity in the natural environment than in the synthetic environment.

**Key words:** bioassay, cladocerans, *Moina macrocopa*, sodium hydroxide, toxicity

#### INTRODUCCIÓN

Los bioensayos de toxicidad permiten evaluar el grado de afectación que una sustancia química tiene sobre organismos vivos, éstos pueden ser de tipo agudo o crónico. Las pruebas agudas cuantifican las concentraciones letales de un xenobiótico a una especie en particular, el valor obtenido se denomina concentración letal media

(CL<sub>50</sub>) y corresponde a la cantidad de un tóxico que causa la muerte al 50 % de la población experimental al cabo de un tiempo determinado, generalmente en 48 o 96 h. En contraste, los ensayos crónicos estiman la concentración - efecto media (CE<sub>50</sub>) o la concentración de efectos no observables (NOEC) de la sustancia en estudio que causa un efecto diferente a la mortalidad en la población experimental, al cabo de un tiempo

determinado (Rodríguez y Esclapés 1995).

El potencial de los organismos animales como bioindicadores en ensayos de toxicidad está ampliamente demostrado. La principal ventaja de emplearlos en investigaciones ecotoxicológicas es la de mostrar los efectos del tóxico a nivel individual y sus consecuencias posteriores para niveles superiores de organización biológica, población y comunidad (Alayo y Iannacone 2002). La información obtenida en las pruebas de toxicidad aguda y crónica mediante protocolos estandarizados es utilizada en el establecimiento de estándares de calidad acuática, límites permisibles de emisión de contaminantes y biomonitoreos (Sánchez y Vera 2001).

Los organismos biológicos para ser usados como herramientas ecotoxicológicas requieren ser sencillos, prácticos, sensibles y repetibles (Iannacome *et al.* 1998, Alayo y Iannacone 2002). Los cultivos controlados permiten obtener individuos óptimos y saludables para las pruebas toxicológicas (Centeno *et al.* 1995, Lauth *et al.* 1995, Trottier *et al.* 1997); la carencia de estandarización en las condiciones de cultivo es la mayor fuente de variación de los resultados en un mismo laboratorio, así como entre laboratorios (Centeno *et al.* 1995, Wong y Dixon 1995).

Dentro de los organismos comúnmente utilizados en los bioensayos de toxicidad se encuentran los cladóceros, también llamados pulgas de agua, los cuales son pequeños crustáceos que constituyen la mitad de la Clase Branchiopoda, poseen una amplia distribución, importancia ecológica, sensibilidad a ambientes intervenidos y sencillo mantenimiento en el laboratorio. En este sentido, *Moina macrocopa* (Straus 1820) presenta una serie de características que la hacen idónea para estudios de toxicidad como lo son: distribución cosmopolita, talla relativamente grande, fácil de cultivar en laboratorio, alta fecundidad, ciclo de vida corto y protocolos estandarizados de pruebas toxicológicas (Esclapés 1999). En Venezuela ha sido reportada en los estados Carabobo, Aragua y Nueva Esparta (Pereira y García 1995; Rodríguez y Esclapés 1995; Hernández *et al.* 1999). Se ha empleado en numerosas pruebas toxicológicas de metales pesados: Iannacone y Dale (1999), Martínez-Tabche *et al.* (2000), Gama-Flores *et al.* (2006), Ruangsomboon y Wongrat (2006); e insecticidas: Iannacone y Alvariano (2000), Iannacone y Alvariano (2002), Wiwattanapatapee *et al.* (2002).

Los decretos y normas de las leyes venezolanas no estipulan las concentraciones máximas permisibles de hidróxido de sodio (NaOH) en los vertidos líquidos, el cual es el principal componente del lodo rojo, subproducto en la extracción de alúmina a partir de bauxita.

Este estudio evaluó el efecto del hidróxido de sodio sobre neonatos de *M. macrocopa* mediante bioensayos de toxicidad aguda, utilizando pruebas de  $CL_{50} - 48$  h en un medio sintético y otro natural.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los bioensayos se realizaron en el Laboratorio de Ambiente e Higiene de la empresa de la Corporación Venezolana de Guayana (C.V.G.) Bauxilum, con neonatos de *M. macrocopa* procedentes de una cepa suministrada por el Laboratorio de Cultivo de Zooplancton del Instituto de Investigaciones Científicas (I.I.C.) de la Universidad de Oriente, Núcleo Nueva Esparta, Venezuela. Los organismos se cultivaron en dos envases de vidrio de 2 L, con 1 L cada uno de los medios de exposición utilizados en las pruebas de toxicidad, agua sintética dura elaborada siguiendo los protocolos estándares de Esclapés (1999), y agua recolectada del canal principal del río Orinoco, específicamente en el muelle de C.V.G. Bauxilum, la cual se caracterizó por el Laboratorio de Ambiente e Higiene de C.V.G. Bauxilum, determinándose ciertos parámetros físico-químicos empleando metodologías aprobadas por A.P.H.A. (1998); fue filtrada con un tamiz de 60  $\mu$ m, sometida por 15 h a rayos ultravioleta y aireada por 2 h.

Durante el cultivo, después de realizar un recambio de medio diario del 75 %, se les proporcionó una ración de 180 mg L<sup>-1</sup> de alimento formulado para zooplancton Z-plus® (Jiménez *et al.* 2003) y fueron aclimatados por 21 días antes de ser usados en los ensayos. Para la obtención de neonatos, hembras partenogenéticas de *M. macrocopa* con embriones en avanzado estado de desarrollo se colocaron en tubos de ensayo de 25 mL con 15 mL del medio de cultivo correspondiente y a las 24 h se confirmó la presencia de neonatos.

Los bioensayos se efectuaron en botellas de cultivo de vidrio de 250 mL a una temperatura de  $20 \pm 1$  °C y con fotoperíodo 10 h luz – 14 h oscuridad, el volumen de medio para cada envase fue de 100 mL con 5 neonatos, 4 replicas por tratamiento, sin aireación ni alimento, con una

## TOXICIDAD DE HIDRÓXIDO DE SODIO SOBRE *MOINA MACROCOPA*

duración de 48 h. Para la prueba con agua sintética dura los organismos se sometieron a las concentraciones de hidróxido de sodio (23, 25, 28, 30 y 33) mg L<sup>-1</sup>, mientras que para el río Orinoco (15, 18, 20, 23 y 25) mg L<sup>-1</sup>, ambos con sus respectivos controles sin NaOH. Las diluciones se establecieron tomando en cuenta el rango estimado en ensayos preliminares donde se presentó la CL<sub>50</sub> para *M. macrocopa* en cada medio, se prepararon a partir de una solución madre de NaOH de 1000 mg L<sup>-1</sup> utilizándose agua sintética dura y agua del río Orinoco como medios de dilución.

Se evaluó el número de organismos vivos y muertos, considerándose muertos aquellos individuos sin movimiento del corazón mediante la observación con microscopio estereoscópico Nikon; a los 15 min, 30 min, (1, 2, 4, 8, 24, 36, 48) h, además se midió a 0, 24 y 48 h el pH con un pHmetro Orion 720A y el oxígeno disuelto con un oxigenómetro YSI 58. Se aplicaron pruebas de ANOVA y t-Student para determinar la presencia de diferencias significativas del pH y oxígeno disuelto del control contra los grupos de tratamientos, por medio del programa computarizado Statgraphics Plus 5.1.

Los datos de las pruebas de toxicidad se

analizaron con los programas estadísticos Binomial, Logit, Moving Average y Probit, utilizando el programa computarizado de Stephan 1977 (Esclapés 1999).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los neonatos de *M. macrocopa* se adaptaron positivamente a las condiciones de laboratorio, los medios y al alimento, ya que se observó un crecimiento exponencial durante los primeros días de cultivo donde se obtuvieron densidades superiores a los 5000 ind. L<sup>-1</sup>, inclusive se hizo necesario disminuir semanalmente la densidad a < 2500 ind. L<sup>-1</sup> para garantizar la presencia de hembras en estado de gravidez. La Tabla 1 muestra los parámetros físico-químicos determinados en el agua del río Orinoco.

En las pruebas de toxicidad no se produjeron muertes en los controles de los dos medios. El bioensayo con agua sintética dura solamente el tratamiento de 30 mg L<sup>-1</sup> de NaOH obtuvo un 100 % de mortalidad a las 48 h, durante las primeras 8 h del experimento no se observaron neonatos muertos (Figura 1). El mayor aumento de muertes ocurrió entre las concentraciones de 25 mg L<sup>-1</sup> (35 %) y

**Tabla 1.** Parámetros físico-químicos en el agua del río Orinoco utilizada en los bioensayos de toxicidad.

Parámetro	Concentración	Parámetro	Concentración
Temperatura (°C)	28,3	Sólidos sedimentables (ml L <sup>-1</sup> )	0,1
pH	6,44	Sólidos disueltos (mg L <sup>-1</sup> )	0,0056
Oxígeno disuelto (mg L <sup>-1</sup> )	6,56	Sólidos suspendidos (mg L <sup>-1</sup> )	0,0011
Demanda química de oxígeno (mg L <sup>-1</sup> )	19,1	Sólidos totales (mg L <sup>-1</sup> )	0,0067
Demanda bioquímica de oxígeno (mg L <sup>-1</sup> )	8,0	Cloruros (mg L <sup>-1</sup> )	1,85
Alcalinidad (mg L <sup>-1</sup> )	6,7	Hierro (mg L <sup>-1</sup> )	1,0
Dureza cálcica (mg L <sup>-1</sup> )	7,5	Calcio (mg L <sup>-1</sup> )	1,1
Dureza magnésica (mg L <sup>-1</sup> )	2,4	Magnesio (mg L <sup>-1</sup> )	0,6
Dureza total (mg L <sup>-1</sup> )	9,9	Sodio (mg L <sup>-1</sup> )	0,6
Turbidez (unt)	32	Potasio (mg L <sup>-1</sup> )	0,6
Color (Pt-Co)	150	Aluminio (mg L <sup>-1</sup> )	0,9

28 mg L<sup>-1</sup> (90 %). La CL<sub>50</sub> de NaOH para *M. macrocopa* en el agua sintética dura fue 25,64 mg L<sup>-1</sup> con límites de confianza al 95 % entre 24,57 - 26,70 mg L<sup>-1</sup>.

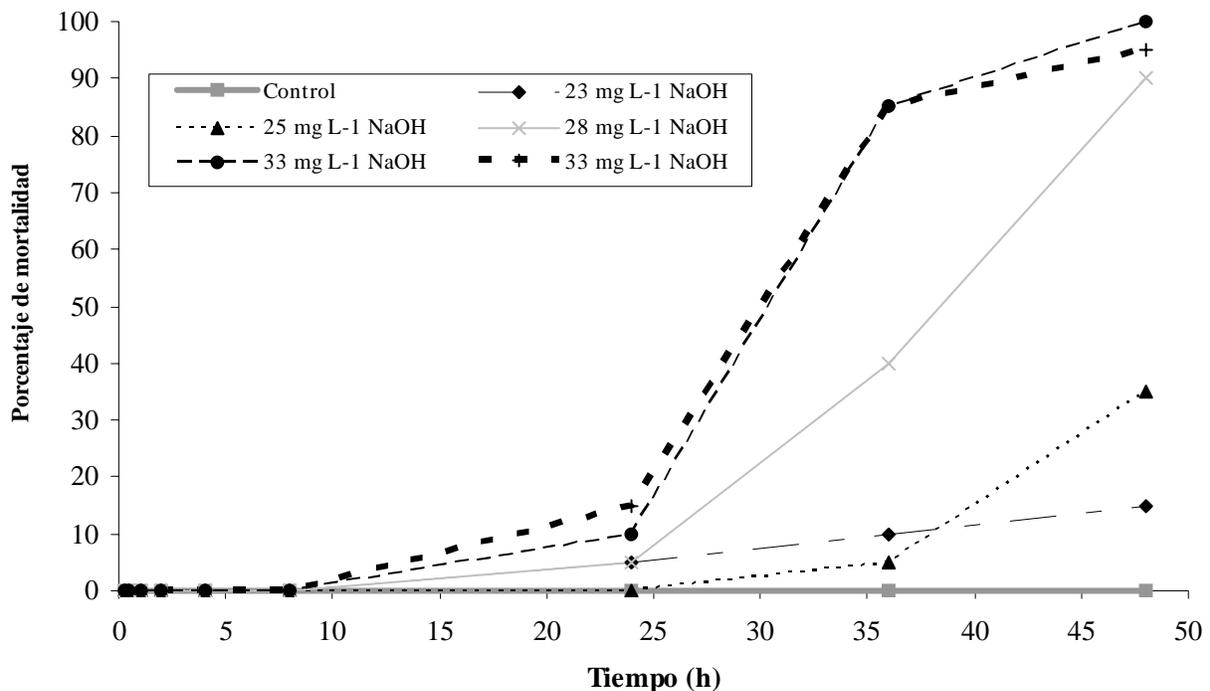
En el ensayo con agua del río Orinoco no se presentaron muertes para la concentración de 15 mg L<sup>-1</sup> de NaOH. La mayor mortalidad (90 %) ocurrió en la concentración más alta (25 mg L<sup>-1</sup>) a las 48 h (Figura 2). Durante las primeras 24 h solo hubo neonatos muertos para la concentración de 25 mg L<sup>-1</sup>. La CL<sub>50</sub> de NaOH para *M. macrocopa* con agua del río Orinoco fue 21,61 mg L<sup>-1</sup> con límites de confianza al 95 % entre 20,59 - 22,81 mg L<sup>-1</sup>.

Las Tablas 2 y 3 muestran las concentraciones de pH y oxígeno disuelto determinados en las experiencias con medio preparado y medio natural, a las distintas concentraciones de hidróxido de sodio. En el caso del bioensayo utilizando agua sintética dura se registró una diferencia apreciable en el pH del control (8,41 – 8,55) con respecto a las diluciones de hidróxido de sodio (9,47 – 9,96), aumentando en más de 1 unidad de pH; mientras en la prueba con agua del río Orinoco se observó un incremento superior a 3,5 unidades de pH. Los análisis de ANOVA y t-Student encontraron diferencias significativas entre el pH del control

con respecto al de las dosis evaluadas en los dos medios de exposición. Este no fue ajustado por considerarse un efecto directo producido por el NaOH al ser incorporado a los ambientes naturales.

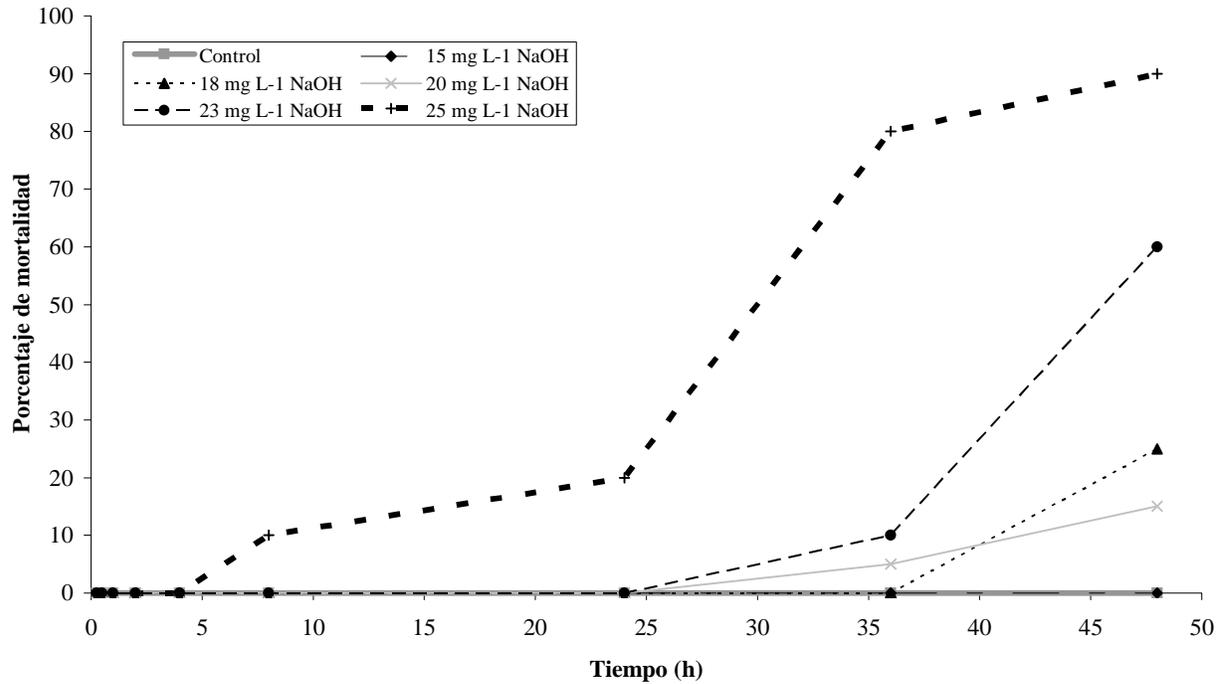
El pH de los tratamientos con hidróxido de sodio en los dos medios estudiados estuvo fuera del óptimo de cultivo (7,0 – 8,6) para *Daphnia* señalado por Lewis y Weber (1985), y por Esclapés (1999) para *Daphnia magna*, *D. pulex* y *M. macrocopa*. La mayoría de los seres vivos se desarrollan en un rango de pH que oscila entre 6,5 y 8,5 (Kemmer y McCallion 1989), Ecker (1991) explica que los cambios de pH alteran la ionización de las proteínas en los organismos.

Los cladóceros poseen los apéndices respiratorios en las patas, el transporte de oxígeno resulta apoyado por la presencia de hemoglobina en la hemolinfa (Margalef 1983). La afinidad hemoglobina - oxígeno se ve afectada por variaciones en la temperatura y el pH. El efecto Bohr describe que una disminución en el pH y un aumento en la temperatura provocan una reducción en la afinidad hemoglobina - oxígeno; mientras un incremento en el pH y una disminución de la temperatura acrecienta la afinidad hemoglobina - oxígeno (Ecker *et al.* 1994). El aumento de pH



**Figura 1.** Mortalidad de *M. macrocopa* observada en los bioensayos de toxicidad aguda con agua sintética dura.

TOXICIDAD DE HIDRÓXIDO DE SODIO SOBRE *MOINA MACROCOPA*



**Figura 2.** Mortalidad de *M. macrocopa* observada en los bioensayos de toxicidad aguda con agua del río Orinoco.

producido en los medios por efecto del NaOH dificulta la separación de las moléculas de oxígeno de la hemolinfa de *M. macrocopa* generando un déficit de energía y obstaculizando la llegada del oxígeno a los músculos.

Las pruebas de ANOVA y t-Student no encontraron diferencias significativas entre el oxígeno disuelto del control con respecto al de los tratamientos en los ensayos con agua sintética dura, pero si en los del agua del río Orinoco en las

**Tabla 2.** Valores de pH y oxígeno disuelto (OD) en los bioensayos de toxicidad aguda con agua sintética dura

Dosis	Control		23 mg L <sup>-1</sup> NaOH		25 mg L <sup>-1</sup> NaOH		28 mg L <sup>-1</sup> NaOH		30 mg L <sup>-1</sup> NaOH		33 mg L <sup>-1</sup> NaOH	
	pH	OD	pH	OD	pH	OD	pH	OD	pH	OD	pH	OD
<b>Tiempo (h)</b>												
<b>0</b>	8,55	9,00	9,60	8,94	9,53	9,03	9,67	9,04	9,70	9,03	9,80	9,04
<b>24</b>	8,43	8,96	9,76	8,88	9,79	8,99	9,89	9,01	9,89	9,01	9,96	8,99
<b>48</b>	8,41	8,76	9,52	8,83	9,47	8,94	9,56	8,96	9,62	8,99	9,72	8,93
<b>Desviación respecto al control</b>	-	-	1,16	-0,02	1,13	0,08	1,24	0,10	1,27	0,10	1,36	0,08

**Tabla 3.** Valores de pH y oxígeno disuelto (OD) en los bioensayos de toxicidad aguda con agua del río Orinoco.

Dosis	Control		15 mg L <sup>-1</sup>		18 mg L <sup>-1</sup>		20 mg L <sup>-1</sup>		23 mg L <sup>-1</sup>		25 mg L <sup>-1</sup>	
	pH	OD	NaOH		NaOH		NaOH		NaOH		NaOH	
Tiempo (h)	pH	OD	pH	OD	pH	OD	pH	OD	pH	OD	pH	OD
0	6,66	8,82	10,13	8,98	10,28	8,76	10,39	8,82	10,50	8,95	10,54	8,93
24	6,43	8,74	10,03	9,01	10,17	8,73	10,28	8,81	10,40	8,91	10,54	8,91
48	6,44	8,70	10,11	8,89	10,25	8,59	10,36	8,79	10,50	8,88	10,56	8,87
<b>Desviación</b>												
<b>respecto al control</b>	-	-	3,58	0,21	3,72	-0,06	3,83	0,05	3,96	0,16	4,04	0,15

concentraciones de 15, 23 y 25 mg L<sup>-1</sup>, debido a que el oxígeno del control fue un poco menor, pero no es atribuible a una alteración causada por el xenobiótico evaluado. El oxígeno disuelto se ubicó entre 8,59 - 9,04 mg L<sup>-1</sup> para todos los tratamientos estudiados. Aunque el oxígeno se mantuvo constante y en altas concentraciones *M. macrocopa* tolera abruptas disminuciones (Martínez y Gutiérrez 1997).

La CL<sub>50</sub> de NaOH para *M. macrocopa* en 48 h fue menor en el medio natural (21,61 mg L<sup>-1</sup>) que en el preparado (25,64 mg L<sup>-1</sup>) debido posiblemente a que se produjo un mayor incremento en el pH del agua del río Orinoco, aumentando el grado de nocividad sobre los organismos estudiados. Merck (1999) señala que el NaOH causa un efecto perjudicial sobre los medios acuáticos ya que altera su pH, además destruye las células al reaccionar con las sustancias líquidas que contiene, generando liberación de calor.

Los valores de CL<sub>50</sub> de NaOH a 48 h sobre *M. macrocopa* determinados en agua sintética dura y agua del río Orinoco, se encuentran dentro del amplio rango (10 - 100 mg L<sup>-1</sup>) de CL<sub>50</sub> a 96 h mencionado por Merck (1999) para organismos acuáticos.

## CONCLUSIONES

La concentración letal media de hidróxido de sodio a las 48 h en el agua sintética dura para *M.*

*macrocopa* fue de 25,64 mg L<sup>-1</sup>, mientras que para el agua del río Orinoco fue de 21,61 mg L<sup>-1</sup>.

El hidróxido de sodio resultó más tóxico en el medio natural en comparación con el medio sintético, presentándose un incremento superior de 3,5 en el valor del pH en los bioensayos con agua del río Orinoco y mayores de 1,1 en las experiencias con agua sintética dura.

## AGRADECIMIENTO

Queremos manifestar nuestro agradecimiento a J. Delgado del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Maracaibo por sus sugerencias y lectura crítica del manuscrito, y a J. Rosas del Instituto de Investigaciones Científicas de la Universidad de Oriente por facilitar la cepa de cultivo de *M. macrocopa*.

## LITERATURA CITADA

- ALAYO, M. y J. IANNACONE. 2002. Ensayos ecotoxicológicos con petróleo crudo, diesel 2 y diesel 6 con dos subespecies de *Brachionus plicatilis* Müller 1786 (Rotifera: Monogononta). *Gayana* 66: 45-58.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION y WATER ENVIRONMENT FEDERATION. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20ma edición. Washington, E.E.U.U.

## TOXICIDAD DE HIDRÓXIDO DE SODIO SOBRE *MOINA MACROCOPA*

- CENTENO, M., G. PERSOONE y M. GOYVAERTS. 1995. Cyst-based toxicity test. IX. The potential of *thamnocephalus platyurus* as test species in comparison with *Streptocephalus proboscideus* Crustacea: Branchiopoda: Anostraca). *Environmental Toxicology and Water Quality* 10: 275-282.
- ECKER, R. 1991. Fisiología animal. McGraw-Hill Interamericana Editores. México, México.
- ECKER, R., D. RANDALL y G. AGUSTINE. 1994. Fisiología animal. Mecanismos y adaptaciones. McGraw-Hill Interamericana Editores, Madrid, España.
- ESCLAPÉS, M. 1999. Protocolos estándares para bioensayos de toxicidad con especies acuáticas y terrestres (PDVSA- INTEVEP). Versión 2.0. Departamento de Ecología y Ambiente. Venezuela.
- GAMA-FLORES, J., S. SARMA y S. NANDINI. 2006. Effect of cadmium level and exposure time on the competition between zooplankton species *Moina macrocopa* (Cladocera) and *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Journal of Environmental Science and Health* 41(6): 1057-1070.
- HERNÁNDEZ, M., A. VELÁSQUEZ, J. ROSAS, T. CABRERA y J. MILLÁN. 1999. Primer registro de *Moina macrocopa macrocopa* (Cladocera: Anomópoda) para la isla de Margarita, Venezuela. Pp. 35, in Programa y Resúmenes de la III Reunión Internacional de Planctonología. Mazatlán, México.
- IANNACONE, J., L. ALVARIÑO y W. DALE. 1998. Pruebas ecotoxicológicas como una herramienta para la evaluación del impacto ambiental de los ecosistemas acuáticos. *Boletín de Lima* 113: 53-68.
- IANNACONE, J. y L. ALVARIÑO. 2000. *Chironomus calligraphus* Goeldi y *Moina macrocopa* (Sars) como herramientas ecotoxicológicas para la evaluación del lindano y clorpirifos. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 71: 33-39.
- IANNACONE, J. y L. ALVARIÑO. 2002. Evaluación del riesgo ambiental del insecticida Cartap en bioensayos con tres invertebrados. *Agricultura Técnica* 62(3): 366-374.
- IANNACONE, J. y W. DALE. 1999. Protocolos de bioensayos ecotoxicológicos para evaluar metales pesados contaminantes de agua dulce con *Chironomus calligraphus* (Diptera: Chironomidae) y *moina macrocopa* (Crustacea: Cladocera), en el río Rímac, Lima, Perú. *Revista Peruana de Entomología* 41: 111-120.
- JIMÉNEZ, D., J. ROSAS, A. VELÁSQUEZ, J. MILLÁN y T. CABRERA. 2003. Crecimiento poblacional y algunos aspectos biológicos del cladóceros *Moina macrocopa* (Straus, 1820) (Branchiopoda, Anomópoda), alimentado con tres dietas en tres salinidades diferentes. *Ciencia* 11(1): 22-30.
- KEMMER, F. y J. McCALLION. 1989. Manual del agua. Su naturaleza, tratamiento y aplicaciones. Tomo I. Nalco Chemical Company. McGraw-Hill Interamericana Editores. México, México.
- LAUTH, J., S. DYER, S. BELANGER y D. CHERRY. 1995. A novel flow-through method for toxicity assessments using *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Water Quality* 11: 335-343.
- LEWIS, P. y C. WEBER. 1985. A study of reliability of *Daphnia* acute toxicity test. Pp. 73-86, in: R. Cardwell, R. Purdy y R Bahner, eds., 7<sup>mo</sup> Symposium on aquatic toxicology and hazard assessment. ASTM SPT 854, American Soc. Testing and Materials, Philadelphia.
- MARGALEF, R. 1983. Limnología. Ediciones Omega. Barcelona, España.
- MARTÍNEZ, F. y A. GUTIÉRREZ. 1997. Fecundity, reproduction and grow of *Moina macrocopa* fed different algae. *Hydrobiologia* 222: 49-59.
- MARTÍNEZ-TABCHE, L., L. GÓMEZ-OLIVÁN, M. GALAR, C. ROMERO y A. MONTERO. 2000. Toxicity of nickel in artificial sediment on acetylcholinesterase activity and hemoglobin concentration of the aquatic flea, *Moina macrocopa*. *Environmental Hydrology* 8(4): 1-10.
- MERCK. 1999. Sodium hydroxide. Safety data sheet. CD-ROOM version INT 1999/2.
- PEREIRA, G. y J. GARCÍA. 1995. Sobre la presencia de los crustáceos *Micrata poeyi*, *Xiphocaris elongata* (Decapoda, Atyidae y Xiphocarididae) y *Moina macrocopa macrocopa* (Cladocera, Monoidae) en Venezuela. *Acta Biológica Venezolánica* 15 (3-4): 89-95.
- RODRÍGUEZ, J. y M. ESCLAPÉS. 1995. Protocolos estándares para bioensayos de toxicidad con especies acuáticas (PDVSA-INTEVEP). Versión 1.0. Gerencia General de Tecnología. Departamento de Ecología y Ambiente. Venezuela.
- RUANGSOMBOON, S. y L. WONGRAT. 2006. Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*Chorella vulgaris*), zooplankton (*Moina macrocopa*), and the predatory catfish *Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*. *Aquatic Toxicology* 78(1): 15-20.
- SÁNCHEZ, G. y G. VERA. 2001. Manual introductorio de ecotoxicología acuática. Informe 161. Instituto del Mar del Perú. Callao, Perú.
- TROTTIER, S., BLAISE, C., KUSUI, T. y E. JOHNSON. 1997. Acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuate* assay. *Environmental Toxicology and Water Quality* 12: 265-271.
- WIWATTANAPATAPEE, R., N. PADOONGSOMBAT, T. CHOOCHOM, S. TANQ y A. CHAIMONGKOL. 2002. Water flea *Moina macrocopa* as a novel biocarrier of norfloxacin in aquaculture. *Journal of Control Release* 83(1): 23-28.
- WONG, P. y D. DIXON. 1995. Bioassessment of water quality. *Environmental Toxicology and Water Quality* 10: 9-17.

---

Recibido 23 de Noviembre de 2006; revisado 07 de Agosto de 2007; aceptado 21 de Septiembre de 2007.