

# Comparación ecotoxicológica al Cloruro de Sodio en *Hydra vulgaris* e *Hydra viridissima*

## Ecotoxicological comparison to Sodium Chloride in *Hydra vulgaris* and *Hydra viridissima*

July Andrea Barrera-Herrera\* y Adriana Janneth Espinosa-Ramírez\*\*

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v25n1.96258

### RESUMEN

El aumento de la salinidad en los ecosistemas de agua dulce genera preocupación sobre los efectos adversos que puede provocar sobre las especies dulceacuícolas y el suelo. Las concentraciones óptimas de iones de sodio y calcio para que las especies del género *Hydra* tengan condiciones fisiológicas adecuadas son relativamente bajas. Este trabajo se enfocó en comparar la sensibilidad de *H. vulgaris* e *H. viridissima* frente al cloruro de sodio (NaCl). Las especies fueron mantenidas bajo condiciones de fotoperiodo, iluminación y temperatura controladas. Se obtuvieron las tasas de crecimiento y en ensayos de toxicidad aguda se calcularon las  $CE_{50}$  (Concentración efectiva media) y  $CL_{50}$  (Concentración letal media) como indicadores de la sensibilidad al NaCl. *H. vulgaris* fue más sensible al NaCl dado que la  $CL_{50-96h}$  fue de 1,0 g/l NaCl (entre 0,8 – 1,2 g/l como intervalo de confianza al 95%), mientras que *H. viridissima* presentó una  $CL_{50-96h}$  promedio de 2,6 g/l (entre 2,0 – 3,3 g/l como intervalo de confianza al 95%). Se considera que esta última fue más tolerante al NaCl, probablemente por la relación simbiótica con la microalga *Chlorella vulgaris*, ya que podría generar un efecto protector. Se espera que comprender el comportamiento de estos biomodelos respecto al aumento de la salinización permita la evaluación temprana de riesgos ecológicos en ecosistemas acuáticos tropicales.

**Palabras clave:** Agua dulce, ecotoxicidad, hidrozooos, salinización, sensibilidad.

### ABSTRACT

The increase in salinity in freshwater ecosystems raises concern about the adverse effects that it can cause in freshwater species and the soil. The sodium and calcium ions optimum concentrations required for genus *Hydra* to have adequate physiological conditions are relatively low. This research compared the *H. vulgaris* and *H. viridissima* sodium chloride (NaCl) sensitivity. The species were propagated under photoperiod, lighting and temperature-controlled conditions. The growth rates were obtained and  $EC_{50}$  (mean effective concentration) and  $LC_{50}$  (mean lethal concentration) were calculated by means of acute toxicity tests as indicators of sensitivity to NaCl. For *H. vulgaris* the  $LC_{50-96h}$  was 1.0 g/l of NaCl with a 95% confidence interval between 0.8 - 1.2 g/l of NaCl, compared to *H. viridissima* presented an average  $LC_{50-96h}$  of 2.6 g/l of NaCl with a 95% confidence interval between 2.0 - 3.3 g/l of NaCl. The *H. viridissima* was more tolerant, probably the symbiotic relationship with *Chlorella vulgaris*, can generate a protective effect. Understanding the behavior of these species with respect to increased salinization can allow an early assessment of ecological risks in tropical aquatic ecosystems.

**Keywords:** Ecotoxicity, freshwater, hydrozoans, salinization, sensitivity.

**Recibido:** diciembre 15 de 2022      **Aprobado:** junio 15 de 2023

\* Bióloga, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Grupo de Investigación Unidad de Ecología en Sistemas Acuáticos/UDESA, Tunja, Col, email: july.barrera@uptc.edu.co, <https://orcid.org/0000-0001-9545-9639>.

\*\* Ph.D., Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Grupo de Investigación Unidad de Ecología en Sistemas Acuáticos/UDESA, Tunja, Col, email: adriana.espinosa@uptc.edu.co, <https://orcid.org/0000-0001-8320-5674>.

## INTRODUCCIÓN

La salinización es un problema ambiental global que actúa como una fuerza selectiva en los ecosistemas acuáticos de agua dulce (Kefford *et al.*, 2016) por el estrés salino que afecta la supervivencia, el desarrollo, la reproducción, el comportamiento y la fisiología de la biota (Hassell *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2007; Rind *et al.*, 2017; Dornelas *et al.*, 2020). Aunque en Colombia, se tiene mayor seguimiento al exceso de sodio (sodización) en suelos y la disminución de productividad vegetal (Flórez *et al.*, 2018), es poco lo que se conoce sobre su impacto en los sistemas acuáticos de agua dulce.

El cloruro (Cl<sup>-</sup>) es uno de los principales aniones inorgánicos del agua, se distribuye ampliamente en la naturaleza, generalmente como sales de sodio (NaCl) y potasio (KCl), formando aproximadamente el 0,05% de la litosfera (Pal & Chakraborty, 2017). Su presencia en aguas dulces se asocia a la erosión de las rocas y a la entrada de agua subterránea salina (Schuler *et al.*, 2019). Actividades antropogénicas como descarga de aguas residuales domésticas, prácticas de riego inadecuadas, remoción de vegetación para la agricultura, la minería, los residuos industriales y la aplicación de fertilizantes contribuyen con la salinización del agua dulce (Cañedo-Argüelles *et al.*, 2013, 2016), siendo un tensor adicional a los ya conocidos y con impactos negativos sobre la biota acuática. La toxicidad que puede ejercer el NaCl u otras sales en ecosistemas acuáticos de agua dulce puede tener efectos en un número sustancial de especies. Por lo tanto, es necesario proyectar investigaciones que evalúen los efectos de sustancias químicas sobre diferentes biomodelos acuáticos que permitan monitorear el impacto de la contaminación en sistemas acuáticos tropicales.

En ecotoxicología acuática el aseguramiento de la calidad analítica de estos ensayos es un componente fundamental ya que evalúa las condiciones de manejo, sensibilidad de los organismos de experimentación y construcción de cartas control con tóxicos de referencia, con metales como cromo, cadmio, cobre, zinc y/o compuestos orgánicos (Karntanut & Pascoe, 2002; Buratini *et al.*, 2004; Díaz-Báez *et al.*, 2004). Se propone en este trabajo el uso de cloruro de sodio (NaCl) como una alternativa más segura, pues su manipulación posee bajos riesgos y evalúa la reproducibilidad de los ensayos bajo condiciones de laboratorio (Santos *et al.*, 2007; Barrera *et al.*, 2019). Por tanto, las pruebas ecotoxicológicas contribuyen con la evaluación de riesgos ambientales y en este caso predecir las consecuencias ecológicas del estrés salino en los ecosistemas de agua dulce en las regiones tropicales (Dornelas *et al.*, 2020).

Los hidrozooos son un grupo de cnidarios preferencialmente marinos con una amplia gama de estrategias de ciclo de vida (Bouillon *et al.*, 2006), aunque existen pocas especies de agua dulce, siendo el género *Hydra* el más conocido (Goffredo & Dubinsky, 2016). Las hidras presentan principalmente, reproducción asexual por gemación, lo que permite que en cortos periodos de tiempo y en condiciones favorables se alcance una alta densidad poblacional, se reporta que luego de alcanzar una densidad representativa exhiben estrategias de reproducción sexual que les permite regular la población, incluso cuando la cantidad de alimento no se altera (Kaliszewicz & Lipińska, 2013). Establecer las condiciones óptimas de alimentación para las hidras es clave para realizar pruebas de ecotoxicidad posteriores, pues una alimentación inadecuada puede disminuir la tolerancia al estrés tóxico (Tökölyi *et al.*, 2014) y/o generar sobreestimación en las evaluaciones ecotoxicológicas. Esto evidencia que la tolerancia al estrés en poblaciones de *Hydra* se modula dinámicamente en respuesta a señales sociales (densidad), ambientales y nutricionales del entorno (Tökölyi *et al.*, 2014; 2016).

*Hydra vulgaris* Pallas 1766 (conocida también como *H. attenuata*) (Anthoathecata: Hydridae) se ha utilizado para evaluar la toxicidad de numerosos contaminantes (MacKinley *et al.*, 2019) como desreguladores endocrinos, nanomateriales, compuestos metálicos, efluentes industriales, agua potable y agua cruda (Blaise & Kusui, 1997; Trottier *et al.*, 1997; Díaz *et al.*, 2004; Quinn *et al.*, 2012; Murphy & Quinn, 2018; Espinosa, 2018; Barrera *et al.*, 2019; Auclair *et al.*, 2020). Mientras que *Hydra viridissima* Pallas 1766 es preferida en evaluaciones de fármacos, nanomateriales y mezclas de contaminantes (Tökölyi *et al.*, 2014; Prouse *et al.*, 2015; Venâncio *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2020).

Este trabajo evaluó la sensibilidad de *H. vulgaris* a la toxicidad al NaCl comparativamente con *H. viridissima*, la última posee una asociación mutualista con el alga simbiote *Chlorella vulgaris* Beijerinck 1890 (Kawaida *et al.*, 2013; Kobayakawa, 2017), con el propósito de identificar respuestas diferenciadas a los estresores ambientales a nivel de género (Lee *et al.*, 2020). Se obtuvo información sobre la tasa de crecimiento (como medida del crecimiento de la población) y las concentraciones: efectiva media (CE<sub>50</sub>) y letal media (CL<sub>50</sub>) como respuesta a concentraciones crecientes de NaCl con valoración por cambios morfológicos de tentáculos y columnella.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Aclimatación y mantenimiento de biomodelos.** Este trabajo se desarrolló en el laboratorio ECOTOX del gru-

po de investigación Unidad de Ecología en Sistemas Acuáticos (UDESA) de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC sede Tunja), donde se propagaron las cepas de las especies *H. viridissima* e *H. vulgaris* bajo condiciones controladas: fotoperiodo (16h:8h) e iluminación (800 luxes), temperatura ( $20 \pm 2^\circ$  C). Los cultivos se desarrollaron en agua potable embotellada con las siguientes condiciones físicas y químicas; dureza (45,6 mg/l  $\text{CaCO}_3$ ; n=3), alcalinidad (93,56 mg/l  $\text{CaCO}_3$ ; n=3), pH (7,14 unidades; n= 3), oxígeno disuelto (4,5 mg/l; n=3). La alimentación se realizó con nauplios de *Artemia salina* recién eclosionados, según lo sugerido por Blaise & Kusui (1997) y Díaz *et al.* (2004).

**Tasa de crecimiento (K).** Se separaron cinco individuos adultos y diariamente se registró el número de yemas o hidrantes obtenidos durante una semana con alimentación constante (Díaz *et al.*, 2004). La tasa de crecimiento se calculó al graficar el logaritmo natural del número de organismos obtenidos por cada día de observación, para así determinar la pendiente de la ecuación de la recta que corresponde a (K), y el tiempo de duplicación de las poblaciones (Td) mediante la ecuación: (Blaise & Kusui, 1997).

$$K = \frac{\ln 2}{T_d} = \frac{0,693}{T_d}$$

**Ensayos de sensibilidad con NaCl.** En microplacas de doce pozos, se evaluaron cinco concentraciones diferentes de cloruro de sodio y un control negativo (agua embotellada potable), cada ensayo se realizó por triplicado y con un total de nueve individuos adultos sin yema por especie según lo establecido por Blaise & Kusui (1997), referenciado en Díaz *et al.*, (2004). Se realizaron ensayos preliminares teniendo en cuenta lo reportado por Santos *et al.*, (2007) para establecer las concentraciones de NaCl a evaluar en cada especie. Para *H. viridissima* el intervalo de las concentraciones estuvo entre de 1,5 a 3,5 g/l de NaCl y para *H. vulgaris* de 0,3 a 1,5 g/l de NaCl, dada la sensibilidad diferenciada entre las especies. El tiempo de exposición fue de 96 h con ob-

servaciones diarias, sin alimentación y sin renovación de la solución acuosa según Blaise & Kusui (1997). Los puntos finales de las pruebas se reflejaron en alteraciones morfológicas subletales (bulbo-corto) y letales (tulipán-desintegrado) en *H. viridissima* e *H. vulgaris* (Figura 4).

**Tratamiento de datos.** Se calculó la  $CL_{50}$  y  $CE_{50}$  con el software Probit Analysis Program, version 1.5 desarrollado por la US Environmental Protection Agency (USEPA) y el software MedCalc versión libre. Los valores de  $CL_{50}$  y  $CE_{50}$  se graficaron (dichos valores van en la ordenada y el número del ensayo en la abscisa) con el fin de obtener la carta control de sensibilidad. Se calculó el promedio y dos veces la desviación estándar para establecer los límites superior e inferior de la misma (Díaz *et al.*, 2004). Además, se calculó el coeficiente de variación de los ensayos de sensibilidad con NaCl.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Tasas de crecimiento (K) y tiempo de duplicación

Los resultados de tasas de crecimiento indicaron un adecuado aumento poblacional para las dos especies (Tabla 1) a las condiciones de cultivo en el laboratorio, con tasas de crecimiento promedio (K) para *H. vulgaris* de 0,30 (n=3) y para *H. viridissima* de 0,32 (n=6), lo que señaló que el manejo y alimentación fueron adecuados para el mantenimiento, estos valores refieren un crecimiento normal y condiciones fisiológicas óptimas según Trottier *et al.* (1997) y Díaz *et al.* (2004), quienes indican tasas para la especie de *H. vulgaris* entre 0,3 y 0,4 tal como se registra en la Tabla 1. Se observa un leve aumento en la tasa de crecimiento de *H. viridissima*, que puede ser favorecido por la endosimbiosis que presenta esta especie, tal como lo reporta Ishikawa *et al.*, (2016). Se resalta que en este trabajo se da el primer reporte de tasa de crecimiento para *H. viridissima* (se realizó una evaluación más amplia n=6), especie candidata para realizar ensayos de ecotoxicidad en las regiones tropicales. En la Figura 1 se observa que durante los primeros

**Tabla 1.** Tasas de crecimiento (K) y tiempo de duplicación en el tiempo de observación para *H. viridissima* e *H. vulgaris*.

Especie	Variables	Mes	Mes	Mes	Mes	Mes	Mes	Promedio	Desv estándar
		1	2	3	4	5	6		
<i>H. viridissima</i>	Tasa de crecimiento (K)	0.31	0.30	0.34	0.31	0.31	0.34	0.32	0.02
	Tiempo de duplicación (Td)*	2.31	2.31	2.10	2.24	2.24	2.10	2.22	0.10
<i>H. vulgaris</i>	Tasa de crecimiento (K)	0.30	0.30	0.30				0.30	0.00
	Tiempo de duplicación (Td)*	2.31	2.31	2.31				2.31	0.00

\* (Td, en días)

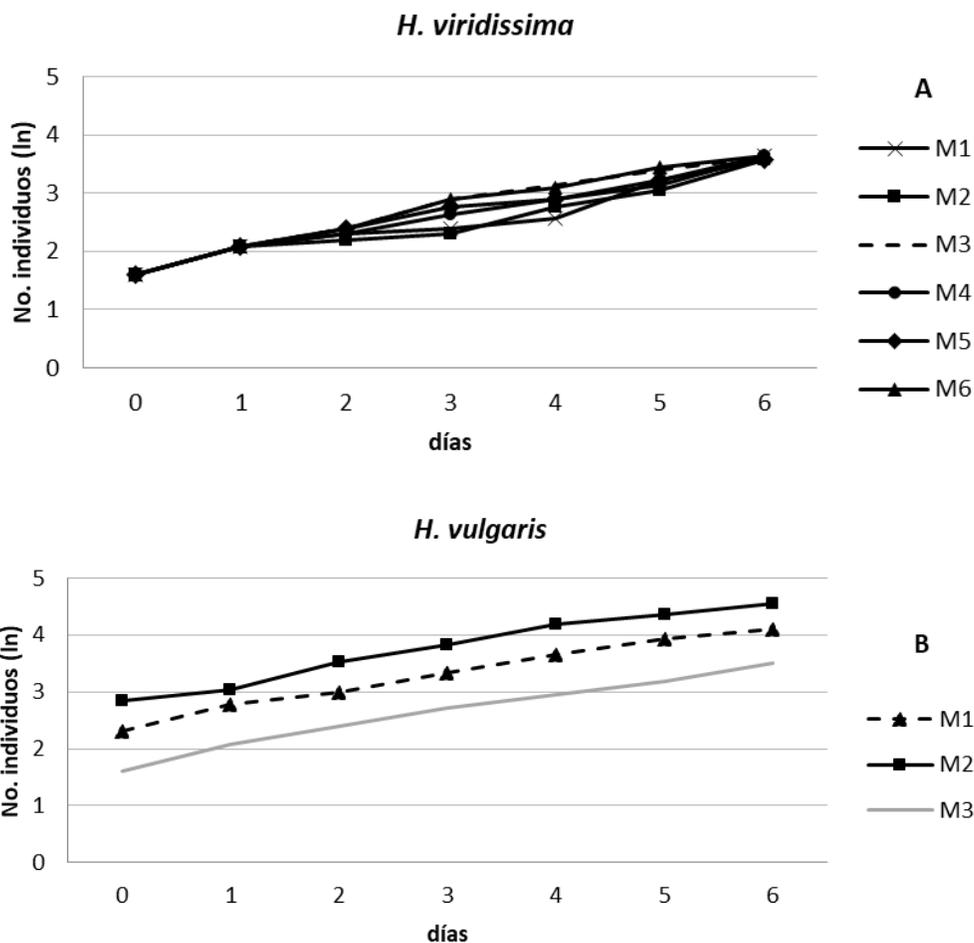


Figura 1. Curvas de crecimiento poblacional: A) *H. viridissima* (n=6) y B) *H. vulgaris* (n=3) para diferentes meses (M).

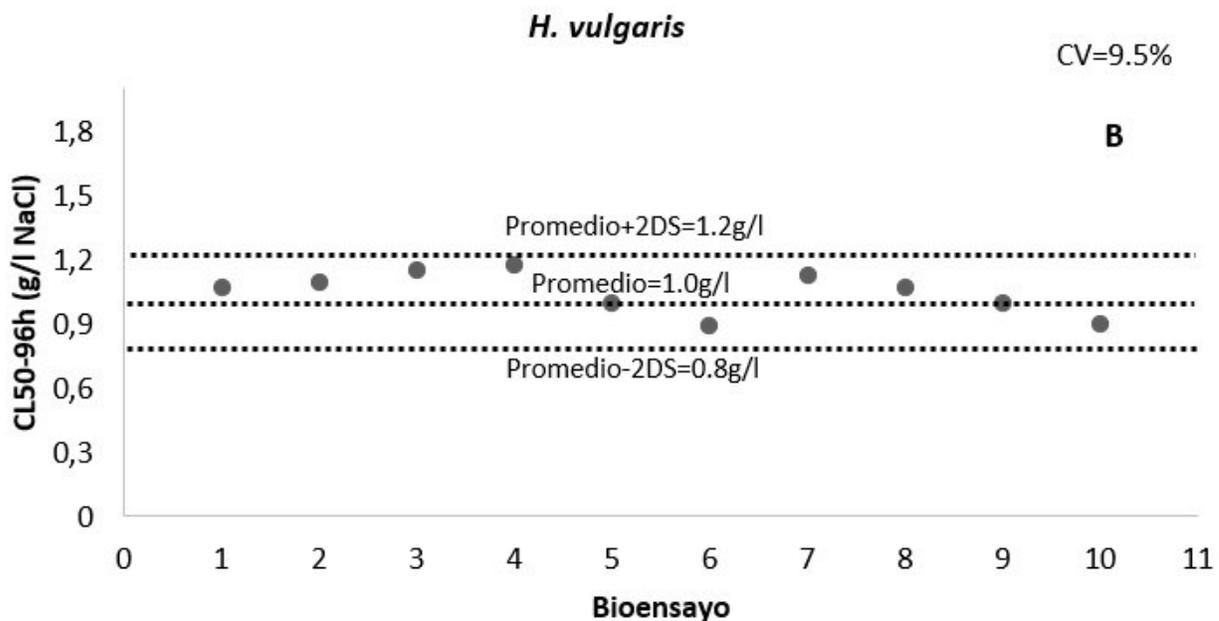
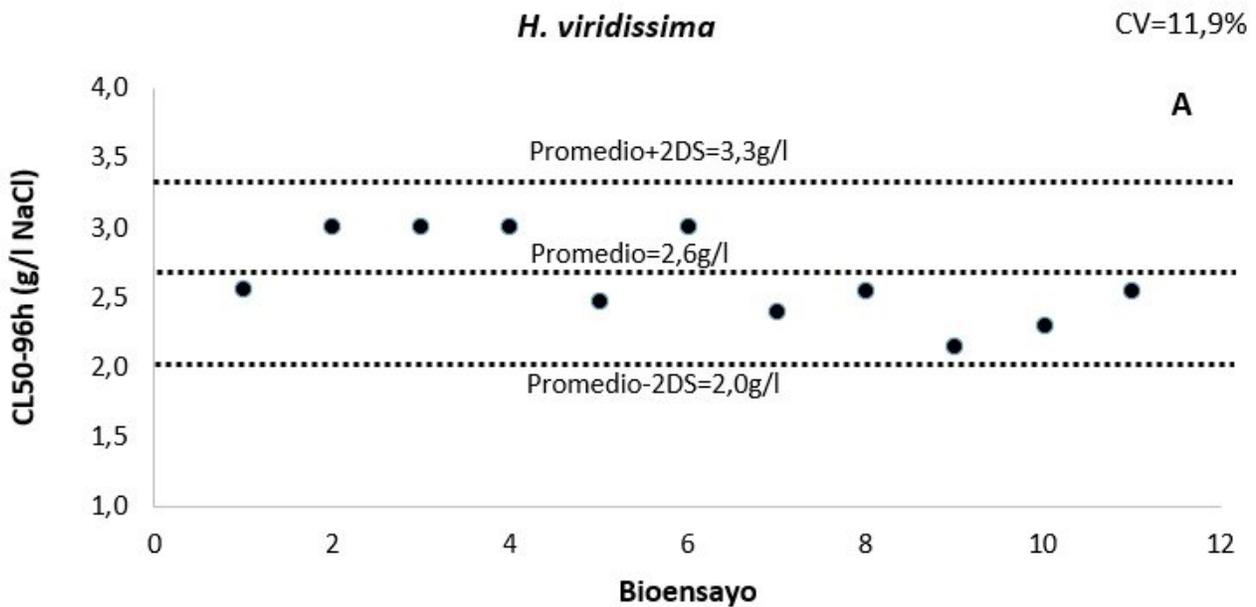
meses de aclimatación en condiciones de laboratorio se presentaron bajas tasas de crecimiento, pero con los ajustes realizados en la alimentación posteriormente se lograron aumentar y estabilizar.

Las tasas de crecimiento y tiempos de duplicación estimadas (Tabla 1) se plantean como indicadores de adecuada aclimatación de los cultivos y en ensayos sub-crónicos y crónicos con estas especies podrían además ser valores de referencia para comparar la afectación a largo plazo de variables poblacionales, por ejemplo, en la evaluación de impactos por fármacos, desreguladores endocrinos o nanomateriales, lo que ampliaría las aplicaciones futuras en ecotoxicología con ambas especies de cnidarios.

#### Ensayos de sensibilidad con NaCl

Para *H. viridissima* se obtuvo una  $CL_{50-96h}$  promedio de 2,6 g/l de NaCl con un intervalo de confianza del 95%

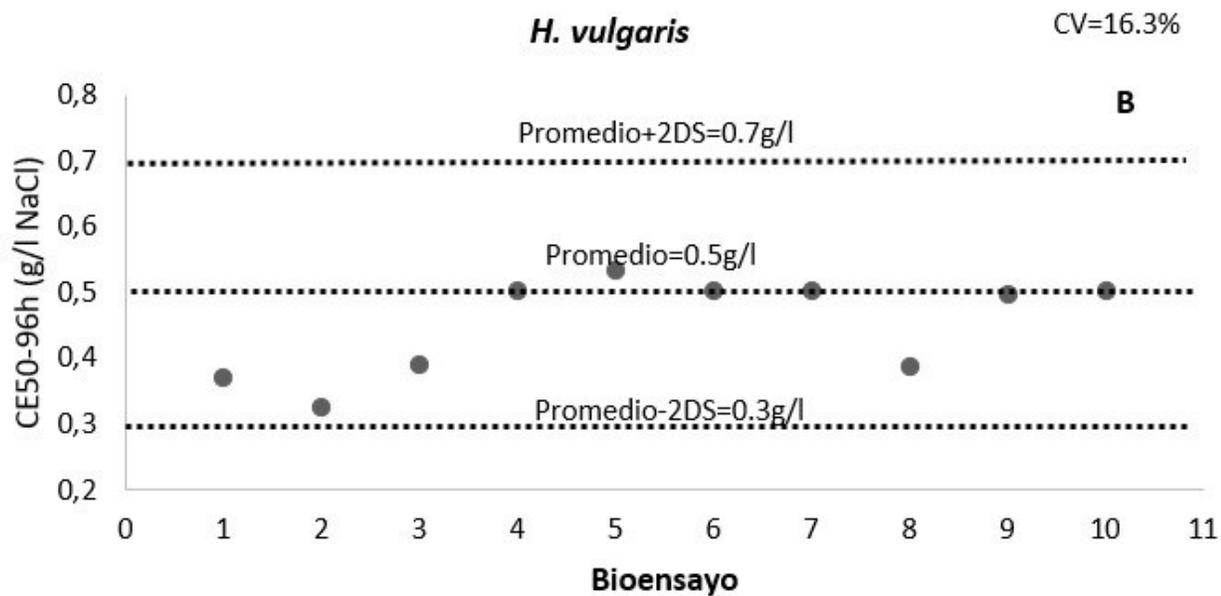
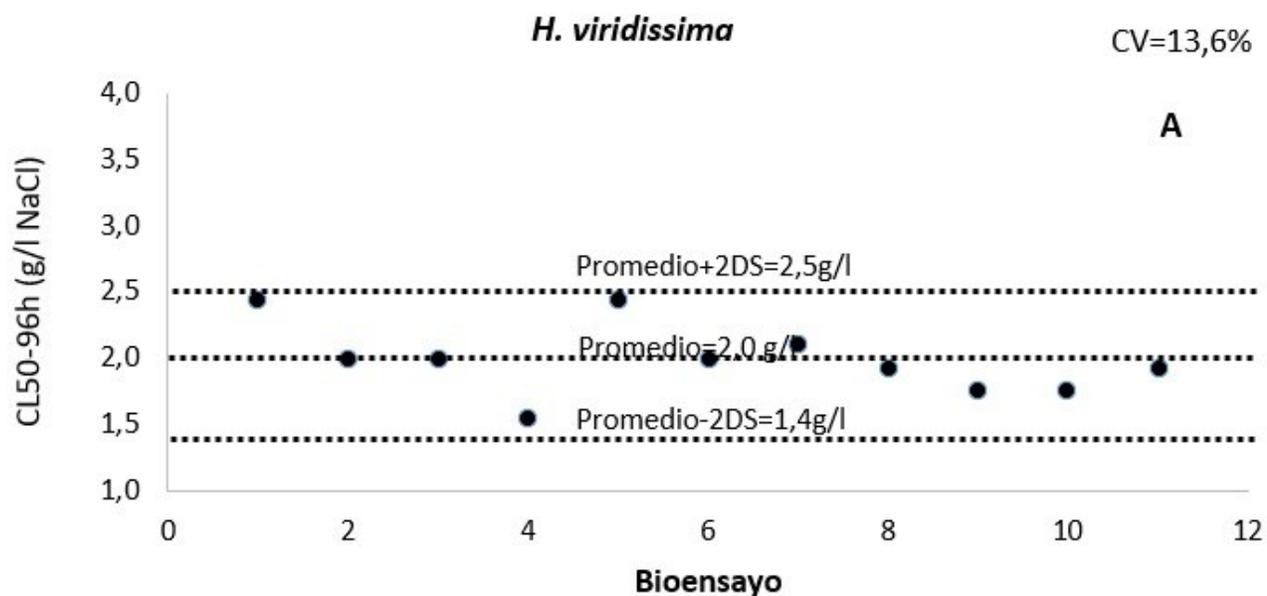
entre 2,0 - 3,3 g/l NaCl (Figura 2A). En contraste, *H. vulgaris* presentó una  $CL_{50-96h}$  de 1,0 g/l y un intervalo entre 0,8 - 1,2 g/l de NaCl (Figura 2B). Los coeficientes de variación (CV) fueron de 11,9% y 9,5% respectivamente. La  $CE_{50-96h}$  promedio para *H. viridissima* fue de 2,0 g/l (1,4-2,5 g/l) de NaCl (Figura 3A) y para *H. vulgaris* 0,5 g/l (0,3-0,7 g/l) de NaCl (Figura 3B), en corchetes se señalan los intervalos de confianza del 95%. Se obtuvieron CV de 13,8% y 16,3%, respectivamente, lo que indica que están dentro de la variabilidad natural de las especies, los coeficientes de variación por debajo del 25% señalan adecuada reproducibilidad de los ensayos, y entrenamiento adecuado del observador (USEPA, 1990; Díaz *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2007), factores clave en la implementación de ensayos de ecotoxicología y confirma que las condiciones de experimentación se cumplieron adecuadamente en esta investigación.



**Figura 2.** Carta control de sensibilidad al NaCl (Letalidad) para *H. viridissima* (A) y para *H. vulgaris* (B). CV: coeficiente de variación; DS: desviación estándar.

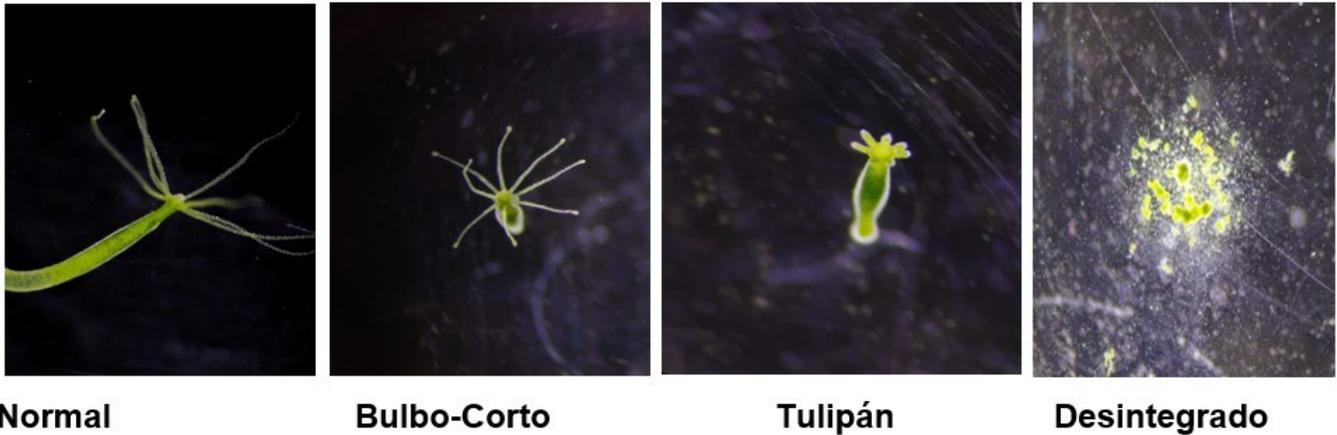
Fue evidente la diferencia de sensibilidad respecto al NaCl entre las dos especies, siendo *H. viridissima* la más tolerante a esta sustancia. Se resalta que dentro de la relación endosimbiótica, *C. vulgaris* no solo proporcionaría beneficios como nutrientes, protección y energía a *H. viridissima*, sino que también podría alterar la fisiología y

bioquímica, modificando su desarrollo y metabolismo químico secundario, y por lo tanto, su tolerancia al estrés (Hamanda *et al.*, 2018). Se ha demostrado que *H. viridissima* a diferencia de *H. vulgaris* podría hacer frente al estrés oxidativo que causa daños, como la muerte celular, se afirma que los genes relacionados con el es-



**Figura 3.** Carta control de sensibilidad al NaCl (Subletalidad) para *H. viridissima* (A) y para *H. vulgaris* (B). CV: coeficiente de variación; DS: desviación estándar.

### *H. viridissima*



### *H. vulgaris*

**Figura 4.** Estados de alteración morfológica de *H. viridissima* e *H. vulgaris* luego de la exposición al cloruro de sodio (NaCl). Toxicidad subletal (bulbos-cortos) y letal (tulipán-desintegrado).

trés oxidativo desempeñan un papel importante en la evolución de la endosimbiosis (Ishikawa *et al.*, 2016).

La sensibilidad al cloruro de sodio para *H. vulgaris* estuvo por debajo de lo reportado por Santos *et al.*, (2007) para la misma especie con una  $CL_{50-96h}$  de 2,57 g/l (2,1-2,9 g/l) y una  $CE_{50-96h}$  1,44 g/l (1,1 - 1,6 g/l), estas diferencias se podrían explicar porque estos autores usaron como medio de cultivo agua reconstituida (agua adicionada con 147 mg/l  $CaCl_2$ , 110 mg/l Tes Buffer, pH: 7,0 +/- 0,1), condiciones que pueden disminuir la toxicidad de esta sustancia.

La USEPA (1988) informó que la concentración ambiental segura de cloruro para los organismos de agua dulce era de 0,23 g/l, concentración que coincide con los resultados obtenidos en esta investigación, ya que *H. viridissima* e *H. vulgaris* presentaron afectaciones subletales dentro del rango de 0,3 a 2,5 g/l NaCl y concentraciones superiores causaron la desintegración de los organismos.

En *Hydra* los cambios en la osmolaridad media alteran las contracciones corporales, que se disminuyen en medios hipertónicos, lo cual evidencia cambios dependientes de la osmolaridad en la actividad neuronal, la actividad muscular y las contracciones corporales (Yamamoto & Yuste, 2020). La superficie exterior del ectodermo de *Hydra* está cubierta por una estructura fibrosa denominada cutícula (menos rígida que en hidrosomas marinos) que presenta proteínas PPOD (peroxidasas) específicas para este género y que probablemente entraron en su genoma por transferencia horizontal de genes de bacterias, lo cual se puede relacionar con el momento en que *Hydra* evolucionó y realizó la transición al medio ambiente dulceacuícola (Hoffmeister-Ullerich *et al.*, 2002; Böttger *et al.*, 2012). Pequeñas concentraciones de iones de sodio ambiental en presencia de calcio son requeridas para el adecuado crecimiento y desarrollo de *Hydra*, por ejemplo, la especie *H. littoralis* requiere aproximadamente 0,0006 g/l de NaCl para permanecer en condiciones óptimas (Lenhoff & Bovaird, 1960).

Sin embargo, durante el tiempo de exposición a diferentes concentraciones de NaCl, *H. viridissima* e *H. vulgaris* mostraron afectaciones evidentes en las células de sus tentáculos (Figura 4), lo cual permitió identificar de manera clara los efectos medidos. Dornelas *et al.*, (2020) resalta que el incremento en la concentración de sales en ecosistemas de agua dulce genera toxicidad letal y subletal en invertebrados acuáticos y puede tener consecuencias negativas para las poblaciones, fenómeno poco explorado ya que los trabajos en el campo de la ecotoxicología en Colombia son aún incipientes a pesar de la necesidad de documentar esta afectación sobre la biodiversidad acuática y proteger los ecosistemas de este tensor ambiental.

Las respuestas medidas se explicarían porque en general los invertebrados de agua dulce mediante la osmorregulación equilibran las concentraciones ambientales de sal y agua, proceso que se altera con el incremento de la salinidad (Vander-Vorste *et al.*, 2019), se genera un aumento potencial en los costos de energía y en consecuencia provoca alteraciones en el desarrollo, reproducción y supervivencia de estos organismos (Hassell *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2007; Rind *et al.*, 2017; Folino-Rorem & Renken, 2018; Dornelas *et al.*, 2020).

*Hydra* posee una capacidad alta para regenerarse, lo que permite su utilización en la evaluación de compuestos teratogénicos y así reconocer el impacto de los contaminantes en las células madre Lee *et al.*, (2020). Sin embargo, en la exposición a corto plazo frente a la presencia de sustancias tóxicas esta capacidad se pierde y se puede evidenciar el daño en el tejido de tentáculos y columnella como aquellos que se evidencian en la Figura 2 (Quinn *et al.*, 2009; Blaise *et al.*, 2018; McKinley *et al.*, 2019). Lee *et al.*, (2020) sugieren que las algas simbiotas protegen a la hidra de efectos tóxicos, por ejemplo, del triclosán, condición que se evidenció en este caso donde se obtuvo una menor sensibilidad de *H. viridissima* frente al NaCl, igualmente se podría especular que cada especie responde diferencialmente o biotransforma el cloruro y que este tiene diferentes mecanismos de acción entre las especies evaluadas.

Se evidenció la alta sensibilidad de ambas especies de hidra comparadas con organismos modelos convencionales en ecotoxicología como *Daphnia magna* Straus 1820 o *Daphnia pulex* Leydig 1860 que reportan CL<sub>50-96h</sub> entre los 3,0 g/l - 6,0 g/l de NaCl y para *Ceriodaphnia dubia* Richard 1894 alrededor de 2,6 g/l de NaCl (Cowgill & Milazzo, 1991), los dípteros de las especies *Culex* sp. Linnaeus 1758 y *Chironomus attenuatus* Walker 1848 reportan concentraciones de 10,3 g/l y 6,6 g/l de NaCl, respectivamente (Thornton & Sauer, 1972).

Adicionalmente, para sensores ictiológicos de intoxicación aguda como *Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792 y *Pimephales promelas* Rafinesque 1820 muestran CL<sub>50-96h</sub> de 11,1 g/l y 7,6 g/l de NaCl (Adelman *et al.*, 1976).

Es importante conocer el comportamiento de los organismos dulceacuícolas frente a los tensores actuales y que se pueden amplificar por los cambios ambientales que enfrentan los ecosistemas acuáticos, por ejemplo, el aumento de salinización y de esta forma iniciar una etapa temprana de evaluación de riesgos ecológicos en sistemas tropicales.

La toxicidad que puede ejercer el NaCl en ecosistemas acuáticos de agua dulce podría influenciar un número sustancial de especies, pulsos de salinidad pueden ser suficientes para inducir cambios estructurales en las comunidades o cambios en las relaciones tróficas (Schuler *et al.*, 2019).

## CONCLUSIONES

Este trabajo reportó información básica de cultivo y aclimatación de dos especies del género *Hydra* en condiciones de laboratorio, con estimación de tasas de crecimiento, tiempos de duplicación, indicadores esenciales para posterior aplicación de pruebas para detección de efectos tóxicos subcrónicos y crónicos en estas especies. Igualmente se determinó que la sensibilidad letal y subletal frente al NaCl en *H. vulgaris* fue más alta que para *H. viridissima*, probablemente porque la relación simbiótica con *C. vulgaris* podría generar un efecto protector en ésta última.

Se requiere proyectar investigaciones que evalúen no solo los efectos del NaCl, sino también de otros estresores que operan simultáneamente en el agua, y se monitoreó con mayor certidumbre el impacto sobre la funcionalidad de los ecosistemas acuáticos tropicales.

## AGRADECIMIENTOS

A la Dirección de Investigaciones de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia por la financiación de las convocatorias internas Capital Semilla 2015, Jóvenes Investigadores 2020 y Productividad 2020 que permitieron desarrollar esta investigación al fortalecer la línea de investigación ECOTOX-UDESA. Al profesor Nelson Javier Aranguren Riaño, director del grupo de investigación UDESA por el apoyo brindado durante este proceso.

## REFERENCIAS

Adelman, I. R., Smith Jr, L. L., & Siesennop, G. D. (1976). Acute toxicity of sodium chloride, pentachlorophenol, Guthion®,

and hexavalent chromium to fathead minnows (*Pimephales promelas*) and goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 33(2), 203-208.

Auclair, J., Quinn, B., Peyrot, C., Wilkinson, K. J., & Gagné, F. (2020). Detection, biophysical effects, and toxicity of polystyrene nanoparticles to the cnidarian *Hydra attenuata*. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(11), 11772-11781.

Barrera, J. A., Espinosa, A. J., & Álvarez, J. P. (2019). Contaminación en el Lago de Tota, Colombia: toxicidad aguda en *Daphnia magna* (Cladocera: Daphniidae) e *Hydra attenuata* (Hydroidea: Hydridae). *Revista de Biología Tropical*, 67(1), 11-23.

Blaise, C., & Kusui, T. (1997). Acute toxicity assessment of industrial effluents with a microplate-based *Hydra attenuata* assay. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal*, 12(1), 53-60.

Blaise, C., Gagné, F., Harwood, M., Quinn, B., & Hanana, H. (2018). Ecotoxicity responses of the freshwater cnidarian *Hydra attenuata* to 11 rare earth elements. *Ecotoxicology and environmental safety*, 163, 486-491.

Böttger, A., Doxey, A. C., Hess, M. W., Pfaller, K., Salvenmoser, W., Deutzmann, R., & David, C. N. (2012). Horizontal gene transfer contributed to the evolution of extracellular surface structures: the freshwater polyp *Hydra* is covered by a complex fibrous cuticle containing glycosaminoglycans and proteins of the PPOD and SWT (sweet tooth) families. *PLoS One*, 7(12), e52278.

Bouillon, J., Gravili, C., Gili, J. M., & Boero, F. (2006). An introduction to Hydrozoa. *Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle, Paris*, 194, 1-591.

Buratini, S. V., Bertoletti, E., & Zagatto, P. A. (2004). Evaluation of *Daphnia similis* as a test species in ecotoxicological assays. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 73(5), 878-882.

Cañedo-Argüelles M, Kefford BJ, Piscart C, Prat N, Schafer RB, Schulz, C. J. (2013) Salinisation of rivers: an urgent ecological issue. *Environmental Pollution*, 173, 157–167.

Cañedo-Argüelles, M., Sala, M., Peixoto, G., Prat, N., Faria, M., Soares, A. M., & Kefford, B. (2016). Can salinity trigger cascade effects on streams? A mesocosm approach. *Science of the Total Environment*, 540, 3-10.

Cowgill, U. M., & Milazzo, D. P. (1991). The sensitivity of two cladocerans to water quality variables: salinity < 467 mg NaCl/L and hardness < 200 mg CaCO<sub>3</sub>/L. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 21(2), 218-223.

Díaz, M. C., Bustos, M. C., & Espinosa, A. J. (2004). Pruebas de Toxicidad acuática: Fundamentos y métodos. *Colección Textos. UNIBIBLOS. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá*.

Dornelas, A. S. P., Sarmiento, R. A., Cavallini, G. S., da Silva Barbosa, R., Vieira, M. M., de Souza Saraiva, A., ... & Pestana, J. L. (2020). Lethal and sublethal effects of the saline stressor sodium chloride on *Chironomus xanthus* and *Girardia tigrina*. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(27), 34223-34233.

Espinosa Ramírez, A. J. (2018). El agua, un reto para la salud pública: la calidad del agua y las oportunidades para la vigilancia en salud ambiental. *Doctorado Interfacultades en Salud Pública. Universidad Nacional de Colombia*.

Flórez, S. L., Miranda, D., & Chaves, B. (2008). Dinámica de nutrientes en la fase vegetativa del cultivo del lulo (*Solanum quitoense* Lam.), en respuesta a salinidad con NaCl. *Agronomía Colombiana*, 26(2), 205-216.

Folino-Rorem, N. C., & Renken, C. J. (2018). Effects of salinity on the growth and morphology of the invasive, euryhaline hydroid *Cordylophora* (Phylum Cnidaria, Class Hydrozoa). *Invertebrate Biology*, 137(1), 78-90.

Goffredo, S., & Dubinsky, Z. (Eds.). (2016). *The Cnidaria, Past, Present and Future: The World of Medusa and Her Sisters*. Springer.

Hamada, M., Schröder, K., Bathia, J., Kürn, U., Fraune, S., Khalturina, M., & Bosch, T. C. (2018). Metabolic co-dependence drives the evolutionarily ancient *Hydra-Chlorella* symbiosis. *Elife*, 7, e35122.

Hassell, K. L., Kefford, B. J., & Nugegoda, D. (2006). Sublethal and chronic salinity tolerances of three freshwater insects: *Cloeon* sp. and *Centroptilum* sp. (Ephemeroptera: Baetidae) and *Chironomus* sp. (Diptera: Chironomidae). *Journal of Experimental Biology*, 209(20), 4024-4032.

Hoffmeister-Ullerich, S. A., Herrmann, D., Kielholz, J., Schweizer, M., & Schaller, H. C. (2002). Isolation of a putative peroxidase, a target for factors controlling foot formation in the coelenterate hydra. *European journal of biochemistry*, 269(18), 4597-4606.

- Ishikawa, M., Yuyama, I., Shimizu, H., Nozawa, M., Ikeo, K., & Gojobori, T. (2016). Different endosymbiotic interactions in two hydra species reflect the evolutionary history of endosymbiosis. *Genome biology and evolution*, 8(7), 2155-2163.
- Kaliszewicz, A., & Lipińska, A. (2013). Environmental condition related reproductive strategies and sex ratio in hydras. *Acta Zoologica*, 94(2), 177-183.
- Karntanut, W., & Pascoe, D. (2002). The toxicity of copper, cadmium and zinc to four different *Hydra* (Cnidaria: Hydrozoa). *Chemosphere*, 47(10), 1059-1064.
- Kawaida, H., Ohba, K., Koutake, Y., Shimizu, H., Tachida, H., & Kobayakawa, Y. (2013). Symbiosis between *Hydra* and *Chlorella*: molecular phylogenetic analysis and experimental study provide insight into its origin and evolution. *Molecular phylogenetics and evolution*, 66(3), 906-914.
- Kefford, B. J., Buchwalter, D., Cañedo-Argüelles, M., Davis, J., Duncan, R. P., Hoffmann, A., & Thompson, R. (2016). Salinized rivers: degraded systems or new habitats for salttolerant faunas? *Biology Letters*, 12(3), 1-7.
- Kobayakawa, Y. (2017). Symbiosis between green algae and hydra. In M. Grube, J. Seckbach, & L. Muggia (Eds.), *Algal and cyanobacteria symbioses* (pp. 347-369). World Scientific.
- Lee, A. H., Fraz, S., Purohit, U., Campos, A. R., & Wilson, J. Y. (2020). Chronic exposure of Brown (*Hydra oligactis*) and green Hydra (*Hydra viridissima*) to environmentally relevant concentrations of pharmaceuticals. *Science of The Total Environment*, 732, 139232.
- McKinley, K., McLellan, I., Gagné, F., & Quinn, B. (2019). The toxicity of potentially toxic elements (Cu, Fe, Mn, Zn and Ni) to the cnidarian *Hydra attenuata* at environmentally relevant concentrations. *Science of the Total Environment*, 665, 848-854.
- Murphy, F., & Quinn, B. (2018). The effects of microplastic on freshwater *Hydra attenuata* feeding, morphology & reproduction. *Environmental pollution*, 234, 487-494.
- Pal, S., & Chakraborty, K. (2017). Different aspects of chloride in freshwater: a review. *International Journal of Current Trends in Science and Technology*, 7(8), 20295-20303.
- Prouse, A. E., Hogan, A. C., Harford, A. J., van Dam, R. A., & Nuggeoda, D. (2015). *Hydra viridissima* (green Hydra) rapidly recovers from multiple magnesium pulse exposures. *Environmental toxicology and chemistry*, 34(8), 1734-1743.
- 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 the Total Environment*, 407(3), 1072-1079.
- Quinn, B., Gagné, F., & Blaise, C. (2012). *Hydra*, a model system for environmental studies. *International Journal of Developmental Biology*, 56(6-8), 613-625.
- Rind, K., Beyrend, D., Charmantier, G., Cucchi, P., Lignot, J. (2017). Effects of different salinities on the osmoregulatory capacity of Mediterranean Sticklebacks living in freshwater. *Journal of Zoology*, 303(4), 270-280.
- Santos, M. A. P. F., Vicensotti, J., & Monteiro, R. T. R. (2007). Sensitivity of four test organisms (*Chironomus xanthus*, *Daphnia magna*, *Hydra attenuata* and *Pseudokirchneriella subcapitata*) to NaCl: an alternative reference toxicant. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2(3), 229-236.
- Santos, V. S. V., Campos, C. F., de Campos Júnior, E. O., & Pereira, B. B. (2018). Acute ecotoxicity bioassay using *Dendrocephalus brasiliensis*: alternative test species for monitoring of contaminants in tropical and subtropical freshwaters. *Ecotoxicology*, 27(6), 635-640.
- Schuler, M. S., Cañedo-Argüelles, M., Hintz, W. D., Dyack, B., Birk, S., & Relyea, R. A. (2019). Regulations are needed to protect freshwater ecosystems from salinization. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 374(1764), 20180019.
- Thornton, K. W., & Sauer, J. R. (1972). Physiological effects of NaCl on *Chironomus attenuatus* (Diptera: Chironomidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 65(4), 872-875.
- Tökölyi, J., Rosa, M. E., Bradács, F., & Barta, Z. (2014). Life history trade-offs and stress tolerance in green hydra (*Hydra viridissima* Pallas 1766): the importance of nutritional status and perceived population density. *Ecological research*, 29(5), 867-876.
- Toekoelyi, J., Bradacs, F., Hóka, N., Kozma, N., Miklos, M., Mucza, O., & Barta, Z. (2016). Effects of food availability on asexual reproduction and stress tolerance along the fast-slow life history continuum in freshwater hydra (Cnidaria: Hydrozoa). *Hydrobiologia*, 766(1), 121-133.

Trottier, S., Blaise, C., Kusui, T., & Johnson, E. M. (1997). Acute toxicity Assessment of Aqueous Samples Using a Microplate-based *Hydra attenuata* Assay. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal*, 12(3), 265-271.

USEPA - Environmental Protection Agency (1988). Ambient water quality criteria for chloride, EPA-440-5-88-001. Office of Water, Washington, DC.

USEPA - Environmental Protection Agency (1990). Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Fourth Ed. Report 600/4-90/027F.

Vander-Vorste, R., Timpano, A. J., Cappellin, C., Badgley, B. D., Zipper, C. E., & Schoenholtz, S. H. (2019). Microbial and macroinvertebrate communities, but not leaf decomposition, change along a mining-induced salinity gradient. *Freshwater Biology*, 64(4), 671-684.

Venâncio, C., Savuca, A., Oliveira, M., Martins, M. A., & Lopes, I. (2020). Polymethylmethacrylate nanoplastics effects on the freshwater cnidarian *Hydra viridissima*. *Journal of Hazardous Materials*, 402, 123773.

Yamamoto, W., & Yuste, R. (2020). Whole-body imaging of neural and muscle activity during behavior in *Hydra vulgaris*: effect of osmolarity on contraction bursts. *Eneuro*, 7(4), 0539.