



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

**CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

TESIS

**ESTUDIO DE LA TOXICIDAD, BIOCONCENTRACIÓN Y RUTAS DE
ENTRADA DEL LITIO EMPLEANDO EL ROTÍFERO *Euchlanis
dilatata* COMO ORGANISMO MODELO**

PRESENTA

I.Q. Norma Patricia Álvarez de Lira

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS EN EL ÁREA DE
TOXICOLOGÍA**

TUTORES

Dr. Roberto Rico Martínez

Dr. Isidoro Rubio Franchini

COMITÉ TUTORAL

Dra. Elsa Marcela Ramírez López

Aguascalientes, Ags., 30 de enero de 2023

M. en C. Jorge Martín Alférez Chávez.
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

PRESENTE

Por medio del presente como **Miembros del Comité Tutorial** designado de la estudiante **NORMA PATRICIA ÁLVAREZ DE LIRA** con ID **307987** quien realizó la tesis titulada: **ESTUDIO DE LA TOXICIDAD, BIOCONCENTRACIÓN Y RUTAS DE ENTRADA DEL LITIO EMPLEANDO EL ROTÍFERO *Euchlanis dilatata* COMO ORGANISMO MODELO** un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia damos nuestro consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que nos permitimos emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Ponemos lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 12 de enero de 2023



Dr. Roberto Rico Martínez
Tutor de tesis



Dr. Isidoro Rubio Franchini
Co-Tutor de tesis



Drá. Elsa Ramírez López
Asesor de tesis



c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.
Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.
Aprobado por: Depto. Control Escolar/ Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-16
Actualización: 00
Emisión: 17/05/19



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

DICTAMEN DE LIBERACIÓN ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRÁMITES DEL
EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación dd/mm/aaaa: 23/01/2023

NOMBRE: NORMA PATRICIA ÁLVAREZ DE LIRA ID 307987

PROGRAMA: MAESTRÍA EN CIENCIAS ÁREA BIOTECNOLOGÍA VEGETAL O TOXICOLOGÍA LGAC (del posgrado): TOXICOLOGÍA

TIPO DE TRABAJO: (X) Tesis () Trabajo Práctico

TÍTULO: ESTUDIO DE LA TOXICIDAD, BIOCONCENTRACIÓN Y RUTAS DE ENTRADA DEL LITIO EMPLEANDO EL ROTÍFERO Euchlanis dilatata COMO ORGANISMOS MODELO

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado): Se espera que la información toxicológica generada en este estudio sea de utilidad para los organizaciones responsables en el manejo y tratamiento de los residuos ricos en Li, y para aquellos que se ocupan del Li que tienen la responsabilidad de regular y proteger los recursos hídricos superficiales

INDICAR SI NO N.A. (NO APLICA) SEGÚN CORRESPONDA:

| <i>Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:</i> | |
|--|--|
| SI | El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado |
| SI | La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario |
| SI | Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado |
| SI | Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda |
| SI | Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área |
| SI | El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área |
| SI | Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país |
| SI | Generó transferencia del conocimiento o tecnológica |
| SI | Cumple con la ética para la investigación (reporte de la herramienta antiplagio) |
| <i>El egresado cumple con lo siguiente:</i> | |
| SI | Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia |
| SI | Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc) |
| SI | Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor |
| SI | Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario |
| SI | Coincide con el título y objetivo registrado |
| SI | Tiene congruencia con cuerpos académicos |
| SI | Tiene el CVU del Conacyt actualizado |
| N.A. | Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda) |
| <i>En caso de Tesis por artículos científicos publicados</i> | |
| N.A. | Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa |
| N.A. | El estudiante es el primer autor |
| N.A. | El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico |
| N.A. | En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación. |
| N.A. | Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados |
| N.A. | La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto |

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado:

Sí X

No _____

FIRMAS

Elaboró:

* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:

Elsa Marcela Ramírez López
DRA. ELSA MARCELA RAMÍREZ LOPEZ

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:

Raquel Guerrero Alba
DRA. RAQUEL GUERRERO ALBA

* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité tutorial, asignado por el Decano

Revisó:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

DR. JUAN JAUREGUI RINCÓN

Autorizó:

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

M en C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHAVEZ

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado

En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos.

Elaborado por: D. Apoyo al Posg.
Revisado por: D. Control Escolar/D. Gestión de Calidad.
Aprobado por: D. Control Escolar/ D. Apoyo al Posg.

Código: DO-SEE-FO-15
Actualización: 01
Emisión: 28/04/20

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA) por permitirme realizar mis estudios de Maestría en sus instalaciones, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el otorgamiento de la beca (467000) para realizar mis estudios de posgrado.

Agradezco a mi tutor el Dr. Roberto Rico Martínez por la paciencia, apoyo y constante supervisión durante el desarrollo de mi tesis.

Agradezco al Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Aguascalientes por permitirme realizar mis análisis con el espectrofotómetro de absorción atómica, sobre todo, agradezco a mi cotutor el Dr, Isidoro Rubio Franchini por la asesoría técnica en la determinación de las concentraciones reales y bioacumulación, así como los consejos personales y profesionales brindados.

Agradezco a la Dra. Elsa Marcela Ramírez López por su asesoría y comentarios realizados.

Agradezco a la Dra. Araceli Adabache por su apoyo técnico en el análisis composicional con microrayos X y las microimágenes SEM proporcionadas.

Agradezco a mis compañeros Uriel Arreguin y Miguel Pedraza por la bienvenida y apoyo brindado al inicio de mi formación en el laboratorio de toxicología acuática.

DEDICATORIA

Con profundo amor a mi hija Victoria por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más

A mi amado esposo Alejandro por su apoyo incondicional, paciencia, amor y cariño siempre

A mis padres Alicia y Cuco por sus palabras de aliento que me motivaron siempre a seguir adelante y no desistir

A mi abuelito Pío

A mis hermanos Ana, María, Noel y José

Gracias por el apoyo infinito, paciencia y cariño

Gracias Dios por permitirme culminar una meta más propuesta en mí vida,

pero, sobre todo, gracias por la familia otorgada

Gracias, gracias, gracias

Los amo con todo el corazón

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | 6 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 8 |
| 2.1 Pruebas de toxicidad | 8 |
| 2.2 Organismos de prueba | 11 |
| 2.2.1 Rotíferos..... | 11 |
| 2.3 Litio | 12 |
| 2.3.1 Origen y fuentes de la contaminación por litio | 13 |
| 2.3.2 Litio en el ambiente acuático | 17 |
| 2.3.3 Riesgos para humanos y animales | 19 |
| 2.3.4 Litio en México | 21 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 22 |
| 4. HIPÓTESIS | 23 |
| 5. OBJETIVO GENERAL | 24 |
| 6. METODOLOGÍA | 25 |
| 6.1 Cultivo del organismo modelo | 25 |
| 6.2 Pruebas de toxicidad aguda | 25 |
| 6.3 Pruebas de toxicidad subletal | 26 |
| 6.4 Bioconcentración | 28 |
| 6.5 Carga corporal letal y crónica mediante absorción atómica | 29 |
| 6.6 Análisis de la distribución del litio en el cuerpo del rotífero <i>Euchlanis dilatata</i> mediante difracción de Rayos-X | 29 |
| 6.7 Determinación de la concentración real de litio | 30 |
| 6.8 Análisis estadístico | 30 |
| 7. RESULTADOS | 31 |
| 7.1 Pruebas Agudas con <i>Euchlanis dilatata</i> | 31 |
| 7.2 Pruebas Crónicas con <i>Euchlanis dilatata</i> | 33 |
| 7.3 Bioconcentración | 37 |
| 7.4 Análisis composicional por difracción de rayos X | 38 |
| 8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 42 |
| 9. CONCLUSIONES | 50 |
| 10. REFERENCIAS | 52 |

Índice de figuras

Figura 1. Rotífero dulceacuícola adulto de *Euchlanis dilatata*12

Figura 2. Fuentes y vías de contaminación por litio en el medio ambiente.....14

Figura 3. Pruebas agudas de 24 hr con *Euchlanis dilatata*32

Figura 4. Pruebas agudas de 48 hr con *Euchlanis dilatata*.32

Figura 5. Prueba crónica de medición de la Tasa intrínseca de crecimiento “r”.....34

Figura 6. Prueba crónica de medición de la Inhibición de la Ingestión.....34

Figura 7. Prueba de Inhibición de la Ingestión con *Euchlanis dilatata*.....36

Figura 8. Microanálisis de rayos X de en el rotífero *Euchlanis dilatata*38

Figura 9. Microfotografía SEM de los sitios de interés para cuantificación elemental en el rotífero *Euchlanis dilatata*39

Figura 10. Comparación de medias en % peso atómico Ca para dos tratamientos40

Figura 11. Comparación de medias en % peso atómico Ca para dos tratamientos40

Índice de Tablas

Tabla 1. Resultados del porcentaje de sensibilidad de concentraciones reales de Li31

Tabla 2. Resultados de las pruebas de toxicidad aguda bajo dos periodos de exposición (24 y 48 h) al Li con *Euchlanis dilatata*.....31

Tabla 3. Resultados de las pruebas de toxicidad crónica al litio con *E. dilatata*33

Tabla 4. Determinación del Li usando absorción atómica durante la prueba de toxicidad crónica de 5 días35

Tabla 5. Determinación de la concentración real de Li, Na y Ca en el medio EPA35

Tabla 6. Factor de Bioconcentración (BCF), Carga Corporal Letal (LBB), Carga Corporal Crónica y Concentración de Li acumulado en *Euchlanis dilatata*37

Tabla 7. Microanálisis de difracción de rayos X de la composición por sitio de interés de *Euchlanis dilatata*39

Tabla 8. Concentraciones reales de Ca antes y después de la exposición.....41

Tabla 9. Comparación de valores LC₅₀ de litio en otros invertebrados.....42

Tabla 10. Comparación de valores EC₅₀ de litio en otros invertebrados.....45

Tabla 11. Comparación de valores BCF de litio en partes anatómicas de pez46

SIGLAS Y ABREVIATURAS

AICS = Inventario de Sustancias Químicas de Australia, en inglés Australian Inventory of Chemical Substances.

ECHA: Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas, por sus siglas en inglés.

EPA = Agencia de Protección ambiental de los Estados Unidos, en inglés Environmental Protection Agency.

NOHSC = Comisión Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional, en inglés National Occupational Health and Safety Commission.

SE = Secretaría de Economía de México.

NOMENCLATURA

BCF = Factor de bioconcentración, en inglés Bioconcentration factor.

CCB = Carga corporal crónica, en inglés Chronic body burden.

CCB_{re} = Carga corporal crónica de la reproducción.

CCB_{in} = Carga corporal crónica de la inhibición del crecimiento.

CL = Límites de confianza, en inglés Confidence limits.

CV = Coeficiente de variación, en inglés coefficient of variation.

EC₅₀ = Concentración efectiva en la cual se observan efectos crónicos en el 50 % de los organismos expuestos, en inglés Effective concentration 50.

LBB = Carga corporal letal, en inglés Letal body burden.

LC₁₀ = Concentración en la cual muere el 10 % de los organismos expuestos, en inglés Letal concentration 10.

LC₅₀ = Concentración en la cual muere el 50 % de los organismos expuestos, en inglés Letal concentration 50.

LIB = Baterías de iones de litio, en inglés Lithium ion batteries.

LOEC = Concentración mínima en donde se observa un efecto, en inglés Lowest observed effect concentration.

NOEC = Concentración donde no se observa un efecto, en inglés No observed effect concentration.

SD = Desviación estándar, en inglés standard deviation.

RESUMEN

El litio es considerado actualmente un contaminante emergente que ha despertado el interés de la comunidad científica por sus posibles efectos adversos en los ecosistemas. A pesar de la creciente extracción de este mineral para satisfacer la alta demanda de artículos electrónicos y baterías recargables, el impacto ambiental en los ámbitos naturales no se ha estudiado, por lo que es importante generar información de este elemento y sus efectos en los diferentes organismos que habitan los nichos ecológicos. En este trabajo evaluamos la toxicidad del Li en el rotífero *Euchlanis dilatata* mediante pruebas de toxicidad aguda y crónica, análisis de difracción de rayos X con SEM y técnicas de absorción atómica. Determinamos la LC₅₀ para dos tiempos de exposición, como era de esperar, el período prolongado de exposición afectó significativamente a los organismos. En la prueba de reproducción, la tasa intrínseca se vio ligeramente afectada ($EC_{50r} = 3.93 \text{ mg L}^{-1}$). Nuestros resultados sugieren que un posible aumento en la densidad del alga *Chlorella vulgaris* podría influir en la tolerancia al tóxico sobre el crecimiento poblacional de *E. dilatata*; en cambio, el efecto adverso sobre la tasa de ingestión fue más sensible ($EC_{50II} = 0.73 \text{ mg L}^{-1}$). La determinación del FBC, en combinación con datos agudos y crónicos, permitió el cálculo de las cargas corporales. Finalmente, nuestros datos de microanálisis de rayos X indicaron descalcificación en la lorica y calcificación en las antenas del rotífero después de la intoxicación. La calcificación encontrada en las antenas se confirma por absorción atómica. Por lo tanto, asumimos que el Li ingresa al sistema digestivo y se deposita en la lórica. Sin embargo, la ruta de ingreso y almacenamiento de Li aún no se comprende completamente en *E. dilatata*.

Palabras clave: Toxicología Ambiental, Toxicidad de metales, Rotífero, Factor de Bioconcentración, Cargas corporales, Toxicología Acuática.

ABSTRACT

Lithium is currently considered an emerging pollutant that has aroused the scientific community's interest in its environmental impact. Despite the increasing extraction of this mineral to meet the high demand for electronic items and rechargeable batteries, the environmental impact in natural environments has not been studied, so it is important to generate information on this element and its effects on the different organisms that inhabit the ecological niches. In this work, we evaluated the toxicity of Li in the rotifer *Euchlanis dilatata* using acute and chronic toxicity tests, X-ray diffraction analysis with SEM, and atomic absorption techniques. We determined the LC₅₀ for two exposure times (24 h-LC₅₀ = 2.5 mg L⁻¹ and 48 h-LC₅₀ = 0.18 mg L⁻¹). As expected, the extended exposure period significantly affected the organisms. In the reproduction test, the intrinsic rate was slightly affected (EC_{50r'} = 3.93 mg L⁻¹). Our results suggest that a possible increase in the density of the alga *Chlorella vulgaris* could influence the tolerance to the toxic on the population growth of *E. dilatata*; on the other hand, the adverse effect on the ingestion rate was more sensitive (EC_{50II} = 0.73 mg L⁻¹). BCF determination, in combination with acute and chronic data, allowed the calculation of body burdens. Finally, our X-ray microanalysis data indicated decalcification in the lorica and calcification in the antennae of the rotifer post-intoxication. The calcification found in the antennae is confirmed by atomic absorption. Therefore, we assume Li enters the digestive system and is deposited in the loric. However, Li's route of entry and storage still needs to be fully understood in *E. dilatata*.

Keywords: Environmental Toxicology; Metal toxicity; Rotifer; Bioconcentration Factor; Body burdens; Aquatic Toxicology.

1. INTRODUCCIÓN

El agua es el elemento más importante debido a que constituye mayoritariamente la materia viva y es el medio donde se llevan a cabo todos los procesos químicos y bioquímicos que posibilitan la vida. Es un recurso altamente demandado por las actividades productivas y de transformación por ende que sea considerado como un factor de desarrollo (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2000). Dada su importancia ambiental en la actividad humana es prioritario mantener constante monitoreo para garantizar su calidad, así mismo, es necesario establecer métodos para reducir su uso y desarrollar tecnologías para su tratamiento (Newman, 2015).

Las principales fuentes de contaminación del agua incluyen las descargas de desechos inorgánicos y orgánicos, desechos industriales, compuestos del petróleo, desechos municipales, agrícolas, pesticidas y desechos de la industria minera (Yu, 2005). Entre los contaminantes inorgánicos se encuentran los metales pesados y metaloides y un número considerable de moléculas relativamente simples como el fosfato y el amonio (Wright y Welbourn, 2002).

El mundo industrializado está exponiendo a los organismos vivos a diferentes productos químicos y metales como el litio. Debido al gran consumo de artículos electrónicos que funcionan a base de baterías de iones de litio, así como diversas aplicaciones industriales, es imperativo examinar su biodisponibilidad. El litio se encuentra de forma natural en el suelo y el agua, principalmente en concentraciones bajas, y entra en la cadena alimentaria. Si bien el Li geogénico es escasamente soluble, el Li agregado al suelo es uno de los cationes más móviles en el suelo, que puede filtrarse al agua subterránea y llegar al agua superficial a través de la escorrentía. El litio es absorbido fácilmente por las plantas y tiene un coeficiente de acumulación relativamente alto, aunque los mecanismos subyacentes no se han descrito a profundidad. Por lo tanto, la contaminación del suelo con este elemento podría llegar a la cadena alimentaria debido a su movilidad en las aguas superficiales y subterráneas y su absorción por las plantas (Bolan *et al.*, 2021).

El aporte de contaminantes a los ecosistemas acuáticos crea el riesgo de pérdida de hábitat de muchas especies de organismos que presenten una fuente de alimento o producto de interés económico para el hombre (Sierra, 2011), pueden causar enfermedades a humanos

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

y animales. Los contaminantes pueden modificar los procesos biológicos como la inhibición del crecimiento, la reproducción y la migración de especies. Por lo tanto, monitorear y detectar los contaminantes químicos es importante para la seguridad de los humanos y la biota en la tierra (Hassan *et al.*, 2016).

Los altos niveles ambientales de Li afectan negativamente la salud de los seres humanos, los animales y las plantas. No es uno de los minerales esenciales, aunque varios estudios indican que los niveles bajos de este elemento tienen efectos beneficiosos sobre los organismos vivos, mientras que los niveles altos generan efectos tóxicos muy diversos (Shahzad *et al.*, 2016).

En los últimos años, diversos contaminantes considerados como emergentes han sido encontrados en las aguas de los ríos y los mares. Con la demanda cada vez mayor de litio para dispositivos portátiles de almacenamiento de energía, existe una preocupación global asociada con la contaminación ambiental, a través de la producción, uso y eliminación de productos que lo contienen, incluidos teléfonos móviles, su uso terapéutico en pacientes psiquiátricos como estabilizador del estado de ánimo. El litio ha atraído recientemente la atención del público en general y, en particular, a la comunidad científica, y actualmente se considera un contaminante ambiental emergente (Bolan *et al.*, 2021).

Existe mucha información sobre el Li como recurso mineral y sobre la importancia en nuevas aplicaciones industriales de este elemento, sin embargo, existe poca información sobre sus concentraciones en las aguas ambientales o sobre sus efectos en los organismos acuáticos, por lo anterior, existe una necesidad urgente de realizar más estudios en este campo que generen información sobre este metal desde una perspectiva toxicológica.

La inclusión de información toxicológica es muy valiosa para los organismos responsables en el manejo, almacén y tratamiento de los residuos ricos en Li, así como para las dependencias encargadas de regular y proteger los recursos hídricos superficiales. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue realizar un análisis integral de los valores agudos y crónicos con información sobre las posibles vías de entrada y bioconcentración de este metal en el rotífero dulceacuícola *Euchlanis dilatata*.

2. ANTECEDENTES

2.1 Pruebas de toxicidad

En países desarrollados, existen esquemas normativos que incluyen de manera importante la determinación de los efectos de los contaminantes sobre los sistemas biológicos, tanto en exposiciones de corto plazo como de largo plazo (Hobbs *et al.*, 2005).

La evaluación de los efectos tóxicos de los contaminantes se realiza a través de la exposición controlada de los organismos de prueba, a concentraciones establecidas de compuestos químicos (puros o en mezcla) o bien directamente a diluciones de muestra de efluentes contaminantes, muestras de agua de sistemas receptores de descarga, o muestras de formulaciones químicas comerciales, de composición conocida o desconocida, cuya toxicidad desea determinarse (Martínez - Jerónimo, 2008).

La finalidad de las pruebas de toxicidad es obtener información útil para lograr la protección de los organismos acuáticos de una especie determinada o de todas las comunidades que integran la biota de un ecosistema, de los peligros ocasionados por las sustancias contaminantes; por tanto, las pruebas de toxicidad son herramientas necesarias si se quiere evaluar los riesgos potenciales producidos por el estrés antropogénico en ecosistemas acuáticos (Snell y Janssen, 1998).

Para lograr determinar efectivamente la respuesta toxicológica de un ecosistema a un agente exógeno se realizan pruebas de toxicidad que deben considerar ciertas características como la sensibilidad del organismo seleccionado, interpretación de la respuesta observada y cuantificada, extrapolación de resultados, variabilidad de resultados, confiabilidad y reproducibilidad (Snell, 1998).

Existen dos tipos de medición de los efectos tóxicos, que se basan en la concentración a la que se expone un organismo y la duración de la exposición. Las pruebas de toxicidad aguda evalúan la toxicidad relativa de un agente químico a organismos acuáticos seleccionados, tras una exposición a corto plazo a varias concentraciones de este; comúnmente el efecto criterio para peces es la mortalidad; para invertebrados, inmovilidad y pérdida de equilibrio; y para algas, crecimiento (Rand, 1995).

La respuesta aguda es inmediata y se da en exposiciones de corta duración, es útil para determinar concentraciones letales, aunque carece de relevancia ecológica ya que sólo se compara en la realidad con eventos accidentales (Newman, 2015).

Los estudios crónicos evalúan los efectos subletales tal como el crecimiento, reproducción, comportamiento o efectos bioquímicos y son generalmente diseñados para proporcionar un estimado de la Concentración Efectiva Media (CE₅₀) concentración donde se observa una reducción del 50% en el parámetro analizado a 48 o 96 horas (Hoffman *et al.*, 2003). La evaluación de los efectos de la exposición prolongada a la muestra puede proporcionar una estimación directa del umbral del efecto del tóxico (Hernández-Flores *et al.*, 2020).

La bioacumulación en la biota acuática se expresa típicamente por las proporciones de concentraciones químicas en el tejido corporal en relación con la concentración de exposición de la sustancia química. Estos factores de bioconcentración (BCF, por sus siglas en inglés) a menudo son muy variables entre los organismos (De Forest *et al.*, 2007). El grado de bioacumulación de un metal es el resultado de un equilibrio entre la tasa de entrada y la tasa de eliminación. La bioacumulación se produce principalmente debido a la incapacidad de excretar del organismo la cantidad de tóxico necesaria que no represente un riesgo para su existencia o reproducción (Torreblanca *et al.*, 1993).

La acumulación de metales depende de: (a) la especie biológica y el elemento químico considerado, (b) el régimen de exposición aplicado, (c) los mecanismos de homeostasis de los cationes, (d) las influencias del ciclo de vida en la acumulación de metales y (e) un diseño experimental apropiado en diferentes escalas espaciales y temporales (De Forest *et al.*, 2007).

Los BCF y las tasas de absorción derivadas de estudios toxicocinéticos se han utilizado para evaluar el potencial de un organismo para la bioacumulación de metales ligados a partículas o en el agua (Khale y Zauke, 2002).

Diversos estudios han determinado el factor de bioconcentración en rotíferos. Rubio-Franchini y Rico-Martínez (2011) confirmaron que el plomo se puede biomagnificar cuando los principales depredadores son invertebrados. Hernández Ruíz *et al.* (2016) determinaron los valores de bioconcentración de cromo para las especies *B. calyciflorus* y *Lecane*

quadridentata. Recientemente, se determinaron los factores de bioconcentración de cobre, hierro, níquel, mercurio y zinc en el rotífero *E. dilatata* (Hernández-Flores *et al.*, 2020).

Los bioensayos de toxicidad en el laboratorio se basan principalmente en la concentración de exposición-respuesta, por lo que la concentración de exposición no representa la cantidad de tóxico que es asimilado por un organismo. Estos bioensayos se realizan en un rango de concentraciones tóxicas y las respuestas o puntos finales se registran en un tiempo prescrito. Una respuesta es mortalidad donde la concentración letal media (LC₅₀, por sus siglas en inglés) se calcula el valor, o los efectos crónicos sobre la reproducción, la movilidad, la tasa de inhibición de la gestión, actividad enzimática (Verschoor *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2013; Rico-Martínez *et al.*, 2013; Han *et al.*, 2013).

Sin embargo, los resultados de estas pruebas no consideran la cantidad de tóxico asimilado por el organismo que causó la muerte. McCarty (1986) propuso el concepto de carga corporal letal (LBB, Lethal body burden por sus siglas en inglés), que se define como µg por peso corporal que ejerce un efecto tóxico específico (mortalidad, reducción de la reproducción). La carga corporal letal (LBB) y la LC₅₀ se relaciona de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$LBB = BFC * LC50$$

En donde la LBB es la concentración del compuesto dentro del organismo en el momento de la muerte. Por otra parte, la carga corporal crónica (CBB, Chronic body burden por sus siglas en inglés) y la CE₅₀ se relaciona de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$CBB = BFC * EC50$$

En donde la CBB es la carga corporal crónica, y el factor de bioconcentración (BCF) de la sustancia química en el organismo y el agua en equilibrio (McCarty, 1986).

2.2 Organismos de prueba

2.2.1 Rotíferos

Los rotíferos son un grupo de invertebrados microscópicos acuáticos y semiacuáticos que comprenden cerca de 2150 especies pseudocelomadas no segmentadas, bilateralmente simétricas (Nogrady *et al.*, 1993; Wallace, 2002), miden entre 50-2,000 μm , caracterizados por la presencia de una corona ciliada anterior, una pared rígida del cuerpo llamada lóriga que tiene apéndices variables y un órgano faríngeo especializado, el mástax que contiene elementos duros, denominado trofos (Hernández-Flores *et al.*, 2020).

Los rotíferos, son uno de los componentes más importantes de la biota de agua dulce y juegan un papel importante en los ecosistemas acuáticos. Se distribuyen ampliamente, se presentan comúnmente en densidades de hasta 1000 individuos por litro, y son importantes filtradores de algas y bacterias. Los rotíferos se utilizan en acuicultura (Segers, 2008) y como organismos modelo para evaluar la toxicidad mostrando respuestas biológicas reproducibles (Dhams *et al.*, 2011). Los rotíferos se prefieren a otras especies acuáticas para desarrollar pruebas de toxicidad debido a su tamaño, facilidad de cultivo, alta susceptibilidad a tóxicos y disponibilidad de quistes (Snell y Janssen, 1998).

Diferentes pruebas se han realizado con rotíferos, estas pruebas miden parámetros tan diversos como mortalidad, reproducción, comportamiento y fisiología, pruebas moleculares o bioquímicas, y microcosmos (Snell y Janssen, 1998). Se han realizado diferentes estudios con pruebas de toxicidad que han proporcionado información sobre los efectos que tienen los metales sobre los rotíferos (Alvarado-Flores *et al.*, 2012; Rico-Martínez y Santos-Medrano, 2015).

Euchlanis dilatata es una especie cosmopolita, grande y de movimiento lento, además de que está asociada a plantas acuáticas y sedimentos en áreas litorales (Segers, 2008), tiene sensibilidad a los tóxicos y por su asociación con el hábitat de la interfaz agua-sedimento es una especie útil para evaluar los posibles efectos tóxicos de contaminantes asociados a los sedimentos (Arias-Almeida y Rico-Martínez, 2011).



Figura 1. Rotífero dulceacuícola adulto de *Euchlanis dilatata* (Plewka, 2019).

2.3 Litio

El litio (Li) es un metal alcalino, pertenece al grupo IA del sistema periódico y tiene propiedades similares con otros miembros del grupo IA y algunos del grupo IIA. El Li natural existe como una mezcla de isótopos ${}^7\text{Li}$ (92%) y ${}^6\text{Li}$ (8%) y se extrae de la petalita, trifilita, lepidolita, espodumena y amblygonita (Léonard *et al.*, 1995). Las concentraciones promedio en las rocas graníticas y de lutita son de 5 a 10 veces más altas que las de las rocas a base de carbonato. La principal fuente de Li en el medio ambiente es la meteorización de minerales, su abundancia depende de la litología, topografía e hidrología (Török *et al.*, 2021).

El litio se usa ampliamente para diversas aplicaciones, como en la industria de la cerámica y el vidrio, la producción de aluminio, productos farmacéuticos, baterías, y especialmente, en la industria electrónica. En la vida moderna, las baterías de litio se encuentran en teléfonos móviles, computadoras portátiles, tabletas, cámaras, etc. El litio es menos tóxico que otros componentes de la batería, como el níquel y el cadmio, y tiene una larga vida funcional, de 15 años o más. Sin embargo, la tasa de reciclaje y recuperación de litio es muy baja, por lo que aporta una gran cantidad de basura electrónica (Hyo *et al.*, 2017).

La exposición al litio en el medio ambiente genera preocupaciones con respecto a la contaminación ambiental. Los compuestos de litio utilizados en las baterías experimentan reacciones químicas en el aire y el agua, a través de las cuales forman hidróxido de litio (LiOH) en las superficies de los vertederos o centros de reciclaje de baterías de litio (LIB, por su siglas en inglés) (Sun, 2013). Debido a que es soluble en agua, el hidróxido de litio puede fluir hacia ríos, lagos, embalses, etc. a través del agua subterránea, al igual que cualquier otro compuesto metálico soluble en agua (Hyo *et al.*, 2017).

2.3.1 Origen y fuentes de la contaminación por litio

La contaminación ambiental por Li es principalmente de origen geogénico y antropogénico (Aral y Vecchio-Sadus, 2011), que se puede dividir en fuentes puntuales y difusas según la ubicación exacta en la que Li ingresa a los compartimentos ambientales (es decir, aire, agua y suelo) (Figura 1). Como elemento reactivo, el Li no se encuentra en su forma libre en la naturaleza, pero está predominantemente asociado con componentes minerales como apatita o siliciuro de aluminio (Dessemond *et al.*, 2019; Gourcerol *et al.*, 2019; Kesler *et al.*, 2012), y diversas sales como el carbonato de litio (Li_2CO_3), cloruro de litio (LiCl) e hidróxido de litio (LiOH) (Bleiwas y Coffman, 1986; Speirs *et al.*, 2014). Además, el Li en ambientes acuáticos marinos puede ser de origen terrígeno y autigénica, es decir, que se encuentran en el lugar donde se formaron originalmente (Qin *et al.*, 2015).

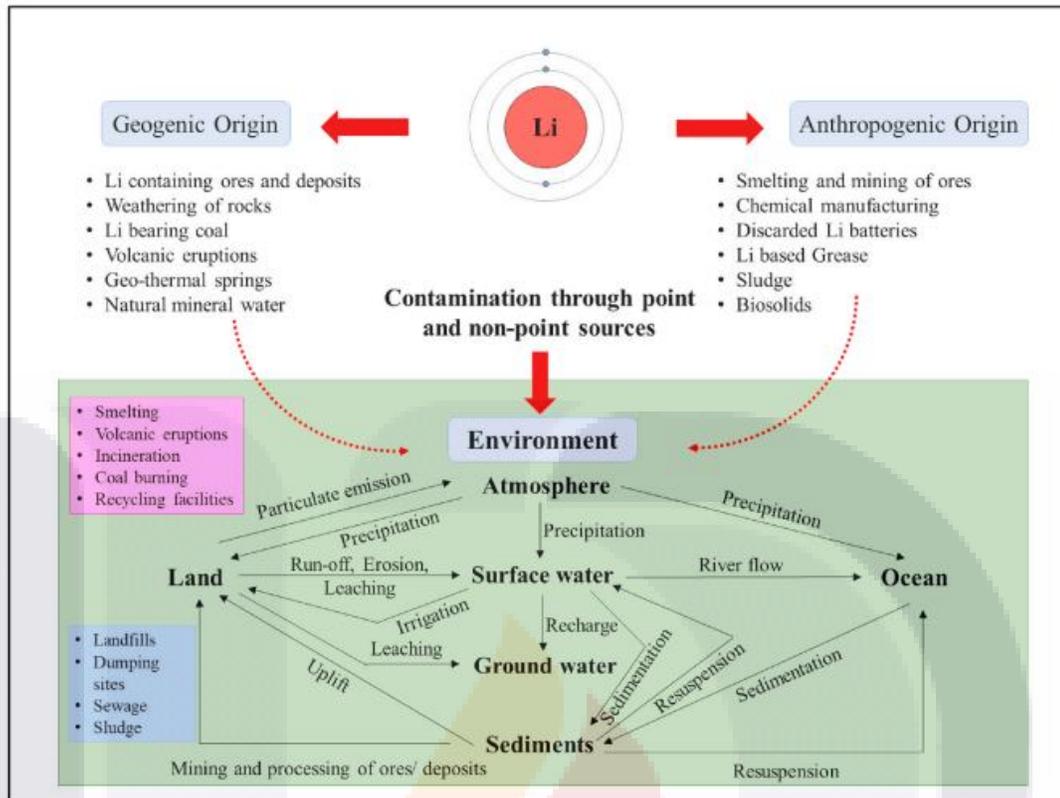


Figura 2. Fuentes y vías de contaminación por litio en el medio ambiente (Bolan *et al.*, 2021).

2.3.1.1 Origen geogénico

Las fuentes geogénicas proporcionan niveles de referencia o de fondo de Li en el medio ambiente. El litio está enriquecido en la corteza terrestre, en un rango de 20 a 60 mg/Kg (0.002-0.006%) de la corteza terrestre con 22, 15, 66, 15 y 5 mg/kg en granito, diabasa, lutitas, areniscas y carbonatos, respectivamente (Danielik y Fellner, 1998).

En los suelos, las concentraciones más altas de Li ocurren en suelos áridos y salinos, donde el Li y otras sales se concentran a través de la evaporación superficial (Merian y Clarkson, 1991). Los procesos de meteorización natural en los depósitos geológicos, las fuentes termales que surgen de las actividades geotérmicas y las erupciones volcánicas son las principales fuentes geogénicas que liberan Li al medio ambiente y desempeñan un papel importante en el equilibrio del ciclo global del Li (Robinson *et al.*, 2018).

El litio también se encuentra naturalmente en pequeñas cantidades (μgL^{-1}) en el agua dulce, el agua subterránea, los océanos, el suelo y la atmósfera y rara vez se encuentra en concentraciones elevadas en el agua, el suelo o los sedimentos del fondo (Aral y Vecchio-Sadus, 2011). La concentración de fondo promedio de Li en el suelo es de $\sim 30 \text{ mg kg}^{-1}$ (Schrauzer, 2002); sin embargo, sus concentraciones oscilaron entre 0,08 y 92 mg kg^{-1} en suelos de Nueva Zelanda (Yalamanchali, 2012).

La meteorización de las rocas (ígneas y sedimentarias) libera Li al suelo (Aral y Vecchio-Sadus, 2008, 2011) y sistemas acuáticos (Milot *et al.*, 2010). Los compuestos que contienen este elemento en estado metálico son muy móviles. Pueden filtrarse fácilmente en fuentes de agua superficiales y subterráneas (Yalamanchali, 2012), volviéndose altamente biodisponibles y tienden a bioacumularse en determinados microbios, lo que podría explicar el alto contenido de Li en las arcillas autigénicas (Milot *et al.*, 2010). En los sistemas de agua dulce, las fuentes naturales en el agua incluyen meteorización de rocas, precipitación y deposición seca de la atmósfera y entrada de agua subterránea (Milot *et al.*, 2010).

En todo el mundo, las concentraciones de Li en el agua mineral oscilan generalmente entre 0.05 y 1.0 mg L^{-1} pero puede llegar a 100 mg L^{-1} en algunos lugares (Schrauzer, 2002). El Li se incorpora en arcillas de aluminio silicato autigénicas formadas sobre el lecho marino (Chan *et al.*, 2006). Aparte de la fracción depositada, la fracción disuelta de Li (0.17 – 0.18 mg L^{-1}) se distribuye homogéneamente a lo largo de la columna de agua oceánica independientemente de la profundidad y latitud (Aral y Vecchio-Sadus, 2011). Los depósitos de salmuera que se encuentran en los lagos secos (por ejemplo, el Salar de Atacama en Chile) contienen altas concentraciones de Li (Yaksic y Tilton, 2009).

Los sedimentos actúan como una fuente de contaminación porque pueden adsorber y acumular contaminantes. Además, la contaminación permanece durante largos períodos, incluso después de que la contaminación ha disminuido (USEPA, 2004). En particular, la adsorción de contaminantes en sedimentos suspendidos y la resuspensión de sedimentos adsorbidos en la interfaz sedimento-agua enriquecen los contaminantes en los sedimentos y su columna de agua asociada.

2.3.1.2 Origen antropogénico

El uso antropogénico de compuestos a base de Li ocurre en el procesamiento de aluminio (Al), tratamientos químicos (por ejemplo, tratamientos de pisos de concreto nano-Li, purificación de aire, compuestos orgánicos y como agentes secantes), productos farmacéuticos, lubricantes, baterías de iones de Li (LIB, por sus siglas en inglés) para electrodomésticos y vehículos eléctricos, y producción de vidrio y cerámica (Hao *et al.*, 2017).

Las LIB gastadas son una fuente potencial de contaminantes en el medio ambiente y su destino final son los vertederos (vertederos de residuos sólidos municipales), las instalaciones de reciclaje especializadas y las instalaciones de conversión de residuos en energía (Bernardes *et al.*, 2004). Si los desechos que contienen Li se eliminan en vertederos o vertederos abiertos o se entierran en el suelo, el contenido químico de los desechos, junto con otras sustancias, puede filtrarse al suelo y contaminar las fuentes de agua superficial y subterránea. Durante el proceso de compactación de los rellenos sanitarios, la carcasa exterior de las baterías y otros dispositivos puede romperse, o la carcasa puede degradarse químicamente, liberando sustancias tóxicas al entorno natural (Winslow *et al.*, 2018).

Las actividades antropogénicas de las áreas urbanas y las industrias también son responsables del aumento del contenido de Li en los ríos y otros cuerpos de agua (Choi *et al.*, 2019). La escorrentía urbana es una fuente importante de contaminación por Li. Muchas sustancias depositadas en los materiales de la superficie se lavan y se transportan a los sistemas de drenaje y cuerpos de agua cercanos. Choi *et al.* (2019) mostró que el área aguas abajo del río Han en Seúl (Corea del Sur) contenía una alta concentración de Li (1.57 mg.L^{-1}) en comparación con el área aguas arriba (0.28 mg.L^{-1}), debido a la contaminación de las LIB, los medicamentos terapéuticos en los desechos hospitalarios y los desechos de alimentos de los hogares y las industrias.

Anualmente, se extraen más de 600,000 toneladas de Li de los depósitos de mineral (p. Ej., Espodumena, lepidolita, petalita, ambligonita y zinnwaldita) y zonas mineralizadas (USGS, 2017), que circulan en el medio ambiente, y se supone que alrededor de 9510 toneladas de Li terminan como desechos (Peiró *et al.*, 2013). Por lo tanto, la minería, la

fundición de metales son fuentes puntuales de contaminación importante por Li durante la explotación y el procesamiento de depósitos de mineral (Tanveer *et al.*, 2019).

El procesamiento del mineral da como resultado la eliminación de relaves y la descarga de efluentes que contienen Li, contaminando los tres compartimentos del medio ambiente, es decir, aire, agua y suelo. Además, el agua de relaves se usa repetidamente sin ningún tratamiento adicional que intensifique el contenido de Li disuelto en los sistemas de agua. Los minerales de Li finamente molidos (p. ej. minerales de fosfato que contienen Li) se disuelven más fácilmente en agua debido a su mayor superficie (Aral y Vecchio-Sadus, 2008). Por lo tanto, el Li también puede ingresar al medio ambiente a través de vertederos de roca estéril y drenaje de minas (Kavanagh *et al.*, 2018).

Las fuentes antropogénicas de emisión de Li a la atmósfera incluyen la quema de carbón enriquecido con Li, polvo y partículas diminutas liberadas durante las actividades de procesamiento de minerales, desechos electrónicos domésticos de los centros de reciclaje y durante la incineración de desechos (Bernardes *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2010; Winslow *et al.*, 2018). Sin embargo, una vez en la atmósfera, el Li puede condensarse en partículas finas y transportarse por el viento a largas distancias, y puede contribuir a la deposición de Li en ambientes terrestres y acuáticos.

2.3.2 Litio en el ambiente acuático

La medición de las concentraciones de Li en las aguas superficiales a menudo se pasa por alto porque las concentraciones de origen natural suelen ser inferiores a 0.04 mg L^{-1} (Emery *et al.*, 1981) sin embargo, su concentración es elevada en cuerpos de agua contaminados por Li (Tanner, 1995).

La información sobre la distribución general y la actividad biológica del Li en las aguas superficiales es muy escasa o está totalmente ausente en muchos libros de texto (Hutchinson, 1975; Cole, 1994; Wetzel, 1983). No se encuentra mucha información publicada sobre las concentraciones de Li en el agua potable. Solo unos pocos estudios informaron la concentración de Li en el agua potable, con valores que van desde 1.0 a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Durfor y Becker, 1964; Sievers y Cannon, 1975; Anderson *et al.*, 1988; Choi *et al.*, 2019).

En Estados Unidos de América, la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) ha regulado el nivel de detección regional de Li de $40 \mu\text{g L}^{-1}$ para agua del grifo residencial (Winslow *et al.*, 2018).

El litio está presente en aguas superficiales a niveles entre 1 y $10 \mu\text{g L}^{-1}$ y en agua de mar a 0.18 mg L^{-1} (Weiner, 1991). Las concentraciones de litio en las aguas subterráneas pueden llegar a 500 mg L^{-1} , mientras que, en las regiones ricas en litio del norte de Chile, el contenido de litio de las aguas superficiales podría llegar a los 5.2 mg L^{-1} (Zaldivar, 1989; Schrauzer, 2002). En todo el mundo, los recursos de agua mineral contienen $0.05\text{-}1 \text{ mg L}^{-1}$ Li; sin embargo, se pueden encontrar niveles más altos de hasta 100 mg L^{-1} en algunas aguas minerales naturales (Schrauzer, 2002).

Además del agua superficial, se han identificado Li y sus isótopos en la mitad inferior de los 13 principales ríos del mundo (Huh *et al.*, 1998). Además, el efecto de tipo lecho rocoso ha hecho que la composición de los isótopos de Li sea mucho más complicada de evaluar en muestras de agua de nivel inferior y, por lo tanto, no se sabe nada acerca de sus propiedades beneficiosas para los organismos que viven en el agua (Aral y Vecchio-Sadus, 2008).

2.3.2.1 Toxicidad del Litio en el ambiente acuático

El Inventario de Sustancias Químicas de Australia (AICS, 2007) ha clasificado al Li metálico como un peligro para la salud, fisicoquímico y/o ecotoxicológico de acuerdo con los criterios aprobados por la Comisión Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional (NOHSC, por sus siglas en inglés) para clasificar sustancias peligrosas. Por otra parte, el Inventario de Sustancias Químicas (TSCA, por sus siglas en inglés) de la EPA lo clasifica en el lugar 288 en forma de sal de Li (EPA, 2022)

El Li, metanolato de Li, el hidruro de Li y Al, se encuentran en la lista danesa de sustancias peligrosas (Kjølholt *et al.*, 2003). Se debe abordar la toxicidad del litio en el medio acuático para examinar el efecto sobre la vida acuática.

Diferentes estudios han informado efectos tóxicos de Li basados en la concentración en diferentes especies acuáticas, en donde, la duración de la exposición de los organismos a las dosis de Li también influyó en la magnitud de la toxicidad. (Shahzad *et al.*, 2016).

Varios estudios han demostrado la toxicidad acuática del Li probando sus efectos en organismos acuáticos como crustáceos, larvas de insectos, peces, etc. (Largo, 1998). En los organismos acuáticos vivos, este elemento en altas concentraciones causa una liberación significativa de ácido domoico, que retrasa la etapa de desarrollo embrionario e induce microcefalia (Shahzad *et al.*, 2016). Por otra parte, la presencia de Li en sedimentos provoca potenciales impactos tóxicos hacia las comunidades bentónicas, los organismos bentónicos tienen un papel importante que desempeñar en la continuidad del ecosistema acuático; por lo tanto, la protección de los hábitats bentónicos es de gran importancia (Viana *et al.*, 2020).

Kszos *et al.* (2003) evaluaron la toxicidad del Li para *Pimephales promelas* (pez de cabecilla gorda), *Ceriodaphnia dubia*, y un caracol de agua dulce (*Elimia clavaeformis*). Descubrieron que, para la mayoría de las aguas naturales, la presencia de sodio es suficiente para prevenir la toxicidad del Li. Sin embargo, en áreas de eliminación histórica o procesamiento o uso intensivo, se justificaría una evaluación del Li desde la perspectiva de la calidad del agua.

2.3.3 Riesgos para humanos y animales

El Li puede ingresar a los cuerpos humanos y animales a través del agua potable y las plantas (Franzaring *et al.*, 2016). Mientras que varios estudios han informado efectos positivos del Li en el agua potable (en concentraciones bajas) sobre la salud mental humana y la calidad de vida, algunos grupos de salud están preocupados por los efectos perjudiciales del Li en altas concentraciones. Por ejemplo, los altos niveles de Li en los cuerpos de agua y el agua del grifo debido a la contaminación de las baterías de Li, causaron toxicidad en los cardiomiocitos humanos (Shen *et al.*, 2020).

Además, altas concentraciones de Li pueden afectar la diferenciación de células madre hematopoyéticas y la síntesis de glucógeno durante el desarrollo fetal (Phiel y Klein, 2001). Sin embargo, el Li en dosis adecuadas podría usarse para tratar varias enfermedades

mentales, incluida la depresión, el suicidio, la demencia y el efecto bipolar (Kessing *et al.*, 2017; Ohgami 2009; Won y Kim, 2017) y, por lo tanto, se requiere un límite seguro de Li.

La toxicidad del Li da como resultado anomalías y disfunciones en varias vías metabólicas, lo que provoca graves problemas para la salud humana. Se ha observado cardiotoxicidad y cambios en los electrocardiogramas benignos y el desarrollo de arritmias fatales debido a la toxicidad por Li.

El Li altera aún más la funcionalidad renal al desregular la actividad de las acuaporinas y entrar en las membranas apicales a través de los canales de Na⁺ epitelial, que inhiben las vías de señalización que involucran a la glucógeno sintasa quinasa tipo 3β (Davis *et al.*, 2018; Grünfeld y Rossier, 2009). El hiperparatiroidismo (sobrepducción de hormonas tiroideas) es otra característica inevitable de la toxicidad por Li (Palmér *et al.*, 1987). Tal respuesta es atribuible a la inactivación de Ca inducida por Li²⁺ receptores de detección e interferencia con la señalización del segundo mensajero intracelular, que concomitantemente resulta en una alta producción de hormona paratiroidea y Ca²⁺ concentraciones en la sangre (Szalat *et al.*, 2009).

Algunos estudios han indicado los efectos tóxicos del Li en diferentes animales, con la dosis tóxica o fatal dependiendo de la especie y los compuestos de Li. Por ejemplo, dosis de 500 y 700 mg Kg⁻¹ de peso corporal mostró depresión severa y ataxia en ganado de carne (Johnson *et al.*, 1980), con Li residual que se encuentra en los tejidos del músculo estriado, el corazón, el hígado, los riñones y el cerebro. La sobredosis de suplementos de Li a una rata preñada provocó drásticas malformaciones en la descendencia, lo que indica que los efectos inducidos por Li pueden transferirse a la descendencia (Smithberg y Dixit, 1982).

2.3.4 Litio en México

Actualmente el país no cuenta con ningún yacimiento de Li en explotación; sin embargo, en los estados de Baja California, San Luis Potosí, Zacatecas y Sonora se encuentran en etapa de exploración tres yacimientos que contienen este mineral con un alto potencial de producción (Secretaría de Economía, 2021).

Con base al Perfil del Li, elaborado por la Secretaría de Economía (SE), el principal uso de este mineral es la manufactura de baterías (56%); la creación de vidrio y cerámica (23%); la producción de grasas lubricantes (6%); de polímeros (4%); polvos para fundición en continuo (3%); tratamiento del aire (2%) y “otros usos”, en el que se incluye la producción de medicamentos para enfermedades mentales (Secretaría de Economía, 2021).

Aunque no hay explotación local, en la actualidad hay tres proyectos financiados con capital privado. Uno de ellos se ubica en Baja California, donde la empresa Pan American Lithium estudia el reprocesamiento de una salmuera residual, producto de la operación de la planta de generación geotérmica de Cerro Prieto de la Comisión Federal de Electricidad. Entre San Luis Potosí y Zacatecas, los estudios realizados por Litiomex S.A. de C.V., pretenden explotar un depósito de sales de Li y de potasio que se encuentra en sedimentos arcillosos y en salmueras de evaporación. Mientras que el más avanzado está en Sonora, donde la empresa inglesa Bacanora Lithium y la china Gangfeng desarrollan el proyecto con el que se espera tener una producción gradual que alcance hasta 35 mil toneladas al año, durante, al menos, los 50 años que dura la concesión (Secretaría de Economía, 2021).

De acuerdo con el Servicio Geológico de los Estados Unidos (USGS, por sus siglas en inglés), en nuestro país se cuenta con unos de los yacimientos potenciales de Li más importantes del planeta, se dice “potencial” pues no existe un inventario ni investigación exhaustiva sobre el tema. No obstante, debe considerarse, además de las evaluaciones de impacto ambiental y los análisis de justicia social, la integración de la evaluación toxicológica para la protección de los organismos acuáticos, puesto que se sabe por trabajos previos, que el litio disuelto que se encuentra en las presas de relaves de tales plantas de beneficio de mineral de Li podría llegar a 13 mg L^{-1} (Aral *et al.*, 2008).

3. JUSTIFICACIÓN

El Litio (Li) es uno de los metales más “críticos” para la sociedad moderna que se utiliza en muchos campos, como la fabricación de dispositivos electrónicos, vidrio y cerámica, así como en productos médicos y cosméticos (Bolan *et al.*, 2021). Dado que el Li es un oligoelemento eficaz para el tratamiento de algunos trastornos mentales, se dispone de mucha información sobre la toxicidad del Li para los seres humanos, sin embargo, la medición de las concentraciones de Li en las aguas superficiales a menudo se pasa por alto porque las concentraciones que ocurren naturalmente son típicamente bajas, de 1.0 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ en aguas superficiales y hasta 0.5 mg L^{-1} en agua subterránea (Schrauzer, 2002).

En México, no se han establecido los límites máximos permisibles de Li para la protección de organismos acuáticos, por lo que es importante conocer los efectos de toxicidad aguda y crónica sobre las especies planctónicas, debido a que las altas concentraciones de Li pueden inducir efectos perjudiciales sobre la vida acuática. Además, actualmente el país se encuentra en etapa de exploración de tres yacimientos que contienen este mineral en los estados de Baja California, San Luis Potosí, Zacatecas y Sonora, por lo anterior, es apremiante disponer de la información sobre la distribución general e información toxicológica del Li en los cuerpos de agua.

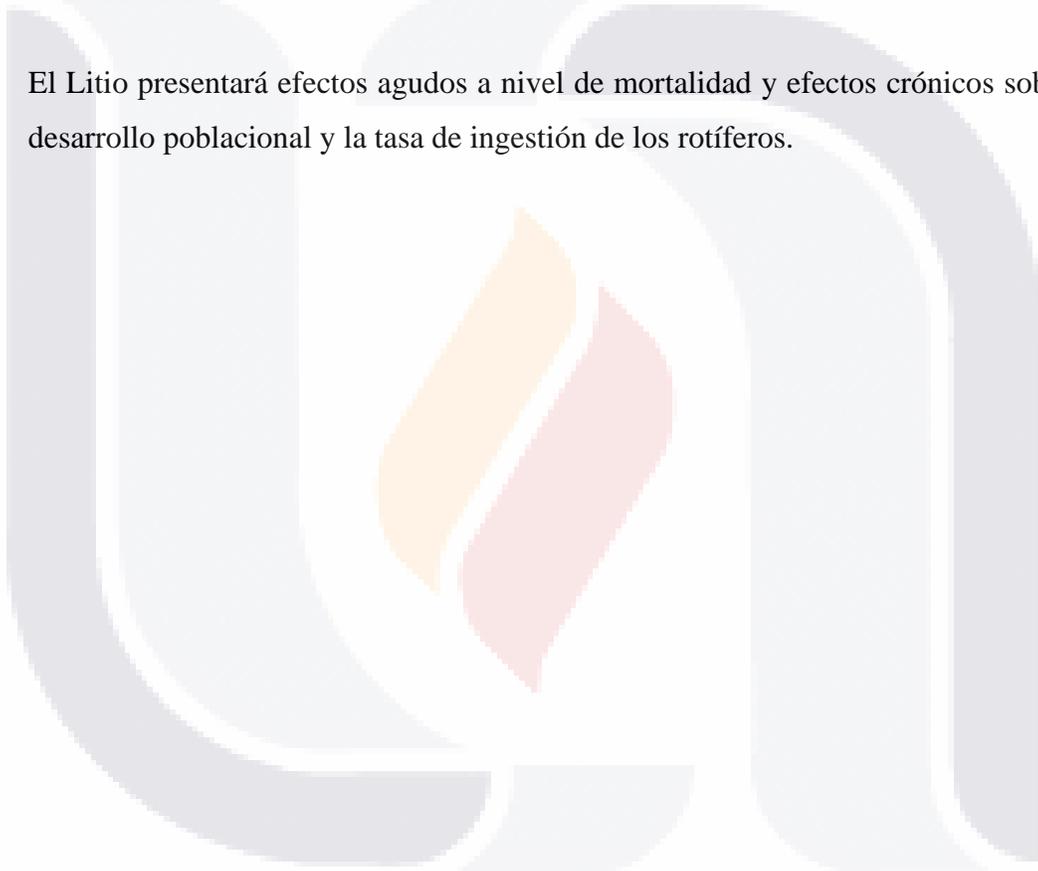
La falta general de información sobre la toxicidad del Li para los organismos de prueba común impulsa esta investigación a evaluar la toxicidad del Li empleando el rotífero *Euchlanis dilatata* como organismo modelo. Este estudio permitió obtener valores de toxicidad aguda y subletal, así como los factores de bioconcentración y cargas corporales, además de investigar la posible ruta de ingreso y distribución de Li en el rotífero.

El presente informe es la principal aportación para el área de la Toxicología en México, creemos que la información aquí generada será de gran utilidad para las organizaciones encargadas de la regulación minera, así como para las dependencias gubernamentales que se encargan de proteger los recursos hídricos en el país. Los objetivos aquí establecidos se encuentran dentro de los programas nacionales estratégicos del CONACyT (PRONACES): a) Conocimiento y gestión de cuencas del ciclo socio-natural del agua, para el bien común y la justicia socioambiental y b) Desarrollo urbano-industrial, desechos sólidos y toxicidades.

4. HIPÓTESIS

El litio al igual que todos los elementos químicos y sustancias antropogénicas tienen un umbral de efectos adversos en los invertebrados dulceacuícolas. Este estudio, pretende identificar ese umbral y en base a esos datos, se generan las siguientes hipótesis:

- El litio será incorporado por los organismos acuáticos y será distribuido en el lóricas, corona, estómago y vitelario de los rotíferos que serán empleados como modelos.
- El Litio presentará efectos agudos a nivel de mortalidad y efectos crónicos sobre el desarrollo poblacional y la tasa de ingestión de los rotíferos.



5. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la toxicidad aguda, subletal, bioacumulación y distribución en el organismo del litio en el organismo modelo *Euchlanis dilatata*.

Objetivos particulares

- 1.- Determinar la toxicidad letal al Li del rotífero dulceacuícola *Euchlanis dilatata*.
- 2.- Determinar la toxicidad subletal al Li del rotífero dulceacuícola *Euchlanis dilatata* mediante pruebas de inhibición del crecimiento e inhibición de la ingestión mediante el uso de microesferas.
- 3.- Determinar factores de bioconcentración, carga corporal letal y crónica mediante absorción atómica.
- 4.- Hacer un análisis de la posible distribución del litio en el cuerpo del rotífero *Euchlanis dilatata* mediante difracción de Rayos-X con microscopio electrónico de barrido.

6. METODOLOGÍA

6.1 Cultivo del organismo modelo

El alga *Chlorella vulgaris* se obtuvo de la colección de cultivos de la Universidad Autónoma de Aguascalientes y se cultivó en Medio Basal Bold (Nichols, 1973). El rotífero *E. dilatata* se colectó de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (21° 44'13.7'' N, 102°21'3.33'' W). El cultivo de este organismo se mantuvo en cajas de Petri con medio EPA (96 mg NaHCO₃, 60 mg CaSO₄·2H₂O, 60 mg MgSO₄ y 4mg KCl por litro, US EPA 2002, 80-100 mg CaCO₃ L⁻¹, pH 7.5, preparado con agua desionizada), a una temperatura de 25 ± 2 °C y un fotoperiodo de 16:8 h de luz:oscuridad en una cámara bioclimática. El rotífero *E. dilatata* fue alimentado con *C. vulgaris* (1 x 10⁶ células mL⁻¹).

6.2 Pruebas de toxicidad aguda

Para la evaluación de esta prueba se utilizó un estándar de Li grado absorción atómica (Sigma Co., USA). Las soluciones con las concentraciones de Li a estudiar se prepararon en medio EPA. En todas las pruebas agudas (24 y 48 h) se realizaron pruebas preliminares para obtener las concentraciones definitivas para las pruebas de toxicidad, se realizaron cinco réplicas y un control negativo.

Los experimentos se realizaron siguiendo el protocolo de Pérez-Legaspi y Rico-Martínez (2001) bajo dos periodos de exposición (24 y 48 h). La prueba inició recolectando huevos partenogénéticos de hembras asexuales ovígeras cultivadas a 25 °C en cajas de Petri en medio EPA 24 h antes del inicio de los experimentos. Los huevos eclosionaron después de 24 h de incubación a 25 °C. Al día siguiente se tomaron 10 neonatos (menores de 24 h de edad) y se colocaron en una poza de una placa de poliestireno de 24 pozas (Corning, USA) en un volumen final de 1000 µL.

El rango de concentraciones nominales utilizados para cada prueba fue: 0.1, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10 mg L⁻¹ y 0.01, 0.1, 0.25, 0.5, 1 mg L⁻¹ para 24 y 48 h respectivamente. La incubación para ambas pruebas se realizó en una cámara bioclimática a un fotoperiodo de 16:8 h (luz:oscuridad) y a 25 °C ± 2 sin alimento y sin renovación de medio EPA. Después

del periodo de exposición se registró el número de muertes u organismos inmovilizados. La mortalidad en los controles siempre fue inferior al 10%.

6.3 Pruebas de toxicidad subletal

6.3.1 Prueba de toxicidad subletal por inhibición del crecimiento poblacional

La prueba se realizó siguiendo lo descrito en el protocolo de *Lecane quadridentata* de 5-d (Hernández Flores y Rico-Martínez, 2006). La prueba inició separando huevos partenogenéticos 24 h antes del inicio de las pruebas y se incubaron a 25 °C, al día siguiente se tomaron 5 neonatos de *E. dilatata* (< 24h) en una poza de una placa de poliestireno de 24 pozas (Corning, USA) y la cantidad de tóxico en un volumen final de 2000 µL. Se realizaron las pruebas para determinar el rango de toxicidad y se incluyeron cinco concentraciones finales y un control negativo.

Los rotíferos se alimentaron sólo al inicio de la prueba con 1×10^6 células mL^{-1} de alga *C. vulgaris*, posteriormente se incubaron a un fotoperiodo de 16:8 h de luz:oscuridad y $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2$ en una cámara bioclimática (Revco Scientifix) durante cinco días. Al final de la exposición se contó el número de organismos en cada poza y se determinó la tasa de crecimiento intrínseco “r” mediante la siguiente fórmula:

$$r = \text{Ln} * \left[\frac{dt - d0}{t} \right]$$

Donde:

Ln: Logaritmo natural

dt: Densidad total (número de organismos encontrados después de 5 días)

d0: Densidad al tiempo “0” (número de organismos colocados al inicio del ensayo)

t: tiempo de exposición (5 días)

El rango de concentraciones nominales utilizado fue de 0.05, 0.50, 1, 2.5 y 10 mg L^{-1} . Se realizaron cinco réplicas y un control negativo para cada tratamiento.

6.3.2 Prueba de toxicidad subletal por inhibición de la ingestión mediante el uso de microesferas

Se tomó de referencia el protocolo de Juchelka y Snell (1994) con modificaciones. Este procedimiento consistió en exponer a los rotíferos a diferentes concentraciones de metal y un control negativo, posteriormente se midió In vivo la inhibición de la ingestión. Las concentraciones nominales del metal fueron 0.025, 0.05, 0.5, 1.0, 2.5 mg L⁻¹. Se utilizaron microesferas de poliestireno (4.18 µm de diámetro interno) con una etiqueta fluorescente (Dragon Green, Bangs Laboratories Inc., USA).

La prueba inició colocando 30 neonatos de *E. dilatata* (menores a 24 horas) en una poza de una placa de poliestireno de 24 pozas (Corning Co. USA) y la cantidad de tóxico en un volumen final de 1000 µL. La incubación se realizó durante 1h en una cámara bioclimática a 25 °C ± 2. Al término de la exposición se adicionaron 4.5 x10⁵ microesferas mL⁻¹, se agitó y se incubaron durante 30 min en la oscuridad a 25 °C. La ingestión se finalizó agregando 100 µL de formalina al 4 %. Los organismos fueron enjuagados tres veces para remover las esferas de la solución. Posteriormente, se colocaron los organismos en un portaobjetos y se protegieron con cubreobjetos. Para permitir el apoyo y evitar aplastar los organismos se colocó plastilina en cada borde del cubreobjetos. Finalmente, los portaobjetos se observaron con un microscopio de fluorescencia DMLS (espectro de excitación de 450 a 490 nm y con barrera de emisión de 515 nm) con una cámara DC100 (Leica Co., Alemania) vinculado a un programa de análisis de imágenes (Image J & Fiji Co., EE. UU). Se examinó un total de 10 animales de cada tratamiento para el control y para cada prueba.

Para medir la inhibición de la tasa de ingestión se generaron máscaras binarias de cada imagen y se seleccionó el estómago o área de interés para analizar. Se realizaron cinco réplicas para cada tratamiento.

6.4 Bioconcentración

Con base al procedimiento realizado por Hernández-Flores *et al.* (2020) se recolectaron mil organismos de *E. dilatata* y fueron expuestos a dos concentraciones (LOEC y LC₅₀) durante 24 h en ausencia de alimentos para permitir la absorción del metal, en un volumen total de 10 mL de solución de EPA, y se incubaron a 25 °C con fotoperíodo 16:8. Al final de las 24 h, los rotíferos vivos se utilizaron para determinar la bioconcentración de litio en el cuerpo según las concentraciones utilizadas. Después de este período, los animales se enjuagaron tres veces en medio EPA y se transfirieron inmediatamente a medio EPA limpio. Las muestras se colocaron en frascos de 10 mL limpios enjuagados con agua desionizada y HNO₃ Instra Analyzed (70%). Los extractos se leyeron por triplicado en un espectrofotómetro de absorción atómica modelo PinAAcle 900 Perkin Elmer siguiendo la metodología de horno de grafito recomendada por el proveedor. Las concentraciones fueron cuantificadas mediante el software syngistix y con un límite de 0.005 mg/L para Horno de grafito. La cantidad acumulada (q) de metal se calculó utilizando el método de cuantificación directa descrito por Rubio-Franchini (2009).

$$q = \frac{(C_R)V}{W}$$

Donde:

q: Cantidad acumulada de metal (µg/g de peso seco)

C_R: Concentración del metal en los organismos (Medición real del extracto con rotíferos en mg L⁻¹)

V: Volumen (0.010 L)

W: Peso seco de rotíferos expuestos al metal (1.31 mg por rotífero en el medio, 1000 rotíferos)

El factor de bioconcentración (BCF) se determinó por la proporción del Li acumulado en todo el cuerpo del rotífero (q) y la concentración del metal en solución (Cs). Expresado como:

$$BCF = \frac{q}{C_s}$$

6.5 Carga Corporal Letal y Crónica

Con base al procedimiento realizado por Hernández-Flores *et al.* (2020) para la determinación de la biomasa, el peso seco de cada organismo ($1.31 \pm 0.088 \mu\text{g}/\text{individuo}$) se utilizó para determinar la carga del cuerpo metálico ($\mu\text{g} / \text{individuo}$) y concentración del metal por unidad de peso corporal ($\mu\text{g} / \text{g}$) (Waykar y Shinde 2011). Se calculó la carga corporal letal y crónica (LBB y CBB, por sus siglas en inglés, respectivamente) empleando el modelo de McCarty (1986):

$$LBB = LC_{50} * BCF$$

$$CBB = EC_{50} * BCF$$

6.6 Análisis de la distribución del litio en el cuerpo del rotífero *Euchlanis dilatata* mediante difracción de Rayos-X con microscopio electrónico de barrido.

Según el procedimiento descrito por Alvarado Flores *et al.* (2012) con algunas ligeras modificaciones, se recolectaron 100 rotíferos en un tubo Eppendorf en un volumen final de 1 mL de medio EPA y agregamos 100 μL de formalina al 5%. Las muestras se deshidrataron con alcohol (60-100%) y la humedad se eliminó mediante un secador de punto crítico con monóxido de carbono. Para la determinación de Li en estructuras internas y externas mediante rayos X con SME, se mantuvieron intactos varios rotíferos y otros se disecaron con agujas de alambre de tungsteno, para permitir el análisis ultraestructural. Posteriormente, las muestras se recubrieron con oro utilizando una cámara DESK II y se fotografiarán con JEOL 5000 LV SEM.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Se analizaron rotíferos (control) y rotíferos expuestos al Li. La observación de los rotíferos se realizó seleccionando cinco sitios de análisis: lórica, pie, antena, corona y partes internas (estómago, mástax, cerebro y músculos). El microscopio electrónico se conectó a un detector Link GEM® detector de germanio. Los correspondientes espectros de rayos X se realizaron a 20 kV con un tiempo de adquisición de 200 s, trabajando a una distancia de 10 mm. El rango de penetración de los rayos X es de 0 a 1000 nm.

6.7 Determinación de las concentraciones reales de litio

Se determinaron las concentraciones reales de exposición al Li usando un espectrofotómetro de absorción atómica PinAAcle 900T con corrector de fondo Zeeman Perkin Elmer siguiendo las metodologías de flama aire-acetileno y horno de grafito recomendadas por el proveedor. Las concentraciones fueron cuantificadas mediante el software syngistix y con un límite de cuantificación de 0.05 mg L⁻¹ para la técnica de flama aire-acetileno y 0.005 mg L⁻¹ para horno de grafito.

6.8 Análisis estadístico

Los valores de todos los criterios de valoración toxicológicos se realizaron determinando las concentraciones reales para el metal. Los valores de LC₅₀ se calcularon mediante regresión entre unidades probit y el logaritmo de cada concentración de tóxico utilizando el software Statistica 10.0 (StatSoft).

Se realizó un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para comparar las cinco concentraciones del metal contra el control negativo y las pruebas de Duncan para determinar diferencias significativas entre las medias de cada concentración de metal versus el control, por lo que se determinó la NOEC (concentración sin efecto observado) y la concentración mínima de efecto observado de LOEC, los intervalos de confianza, IC, al 95% y el coeficiente de variación %, CV.

Los valores de EC₅₀ (la concentración en la que se observa una reducción del 50% en el efecto observado) se calculó por medio de un análisis de regresión lineal entre las diferentes concentraciones de Li y los valores de “r”, porcentaje de inhibición o unidades de fluorescencia.

7.0 RESULTADOS

El porcentaje de sensibilidad de las concentraciones reales de exposición de Li en las pruebas agudas crónicas, factor de bioconcentración y análisis de difracción de rayos X se determinaron por absorción atómica y se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados del porcentaje de sensibilidad de las concentraciones reales obtenidas mediante absorción (n = 3). Todos los valores en mg L⁻¹.

| Prueba | | Concentración de exposición* (mg L ⁻¹) | Porcentaje de sensibilidad |
|---------------------------------|----------------------------|---|----------------------------|
| Aguda | 24 h | 0.1, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10 | 92.59 ± 0.076 % |
| | 48 h | 0.01, 0.1, 0.25, 0.5, 1 | 95.26 ± 0.057 % |
| Crónica | Inhibición del crecimiento | 0.05, 0.50, 1, 2.5 y 10 | 86.8 ± 0.71 % |
| | Inhibición de la ingestión | 0.025, 0.05, 0.5, 1.0 y 2.5 | 86.43 ± 0.62 % |
| Bioconcentración | | 0.1 | 97.83 ± 0.04 % |
| | | 2.5 | 97.60 ± 0.01 % |
| Análisis de distribución del Li | | 2.5 | 97.60 ± 0.01 % |

* Los tratamientos corresponden a la concentración de Li en agua desionizada. Los valores de porcentaje de sensibilidad son medias más 1DE. n = 3 para todas las concentraciones de exposición.

7.1 Pruebas agudas

Los resultados de las pruebas de toxicidad aguda para los dos periodos de exposición se muestran en la **Tabla 2**. En ambas pruebas la NOEC < LC₁₀ < LOEC. El R² de las dos pruebas fue mayor a 0.90 y el CV% fue inferior al 10%. En la **Figura 3 y 4** se muestran las gráficas de regresión lineal de cada una de las pruebas agudas con *E. dilatata*.

Tabla 2. Resultados de las concentraciones reales obtenidas a partir de la toxicidad aguda bajo dos periodos de exposición al litio con *Euchlanis dilatata*. (n = 5). Todos los valores en mg L⁻¹. NOEC = Concentración donde no se observa un efecto diferente al control (No Observed Effect Concentration). LC₁₀ = Concentración letal en la que muere el 10% de la población. LOEC = Concentración mínima donde se observa un efecto diferente al control (Lowest Observed Effect Concentration). LC₅₀ = Concentración letal en la que muere el 50% de la población. LC 95% = Límites de confianza al 95% para los valores de la LC₅₀.

| Parámetro | 24 h | | Parámetro | 48 h | |
|------------------|-------------|-------------|------------------|-------------|-------------|
| | Nominal | Real | | Nominal | Real |
| NOEC | 0.10 | 0.09 | NOEC | 0.01 | 0.009 |
| LC ₁₀ | 0.19 | 0.18 | LC ₁₀ | 0.02 | 0.014 |
| LOEC | 1.00 | 0.93 | LOEC | 0.10 | 0.085 |
| LC ₅₀ | 2.77 | 2.56 | LC ₅₀ | 0.21 | 0.18 |
| LC 95% | 2.40 – 3.20 | 2.22 – 2.97 | LC 95% | 0.19 – 0.24 | 0.16 – 0.20 |
| r ² | 0.9422 | 0.9422 | r ² | 0.9720 | 0.9721 |
| CV (%) | 5.08 | 5.08 | CV % | 3.63 | 3.63 |

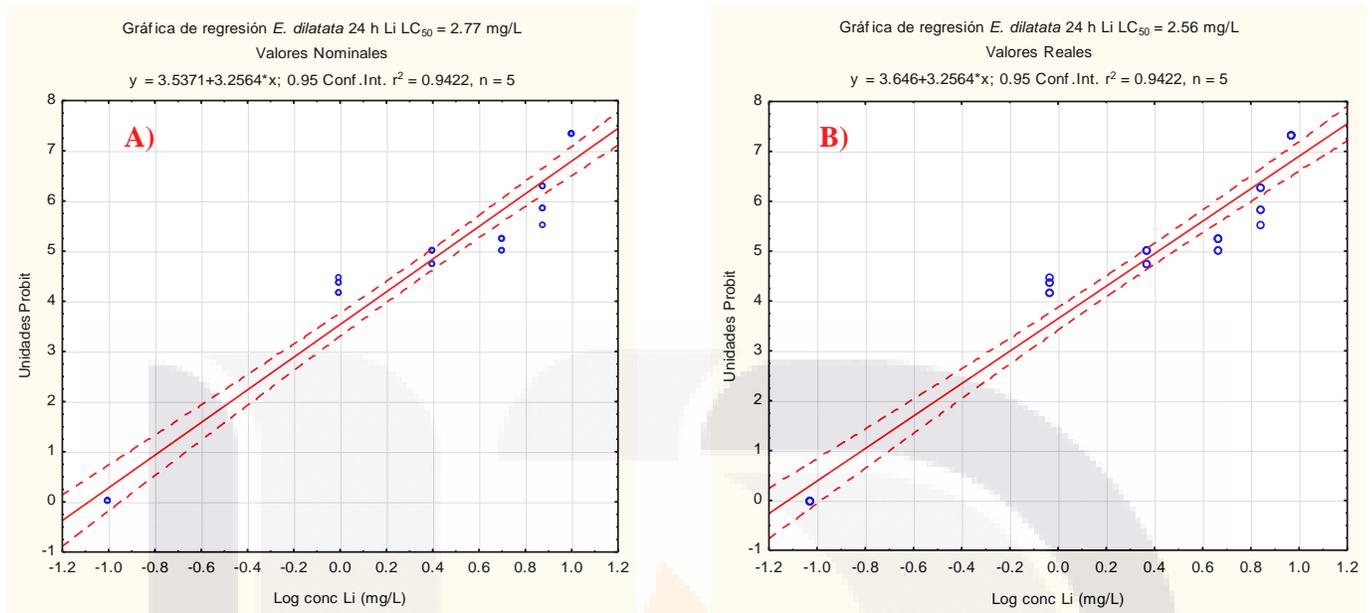


Figura 3. Pruebas agudas de 24 hr con *Euchlanis dilatata*. Gráficas de regresión lineal entre la mortalidad en Unidades Probit de *Euchlanis dilatata* y el Log de la concentración de Li. A) Valores nominales y B) Valores Reales.

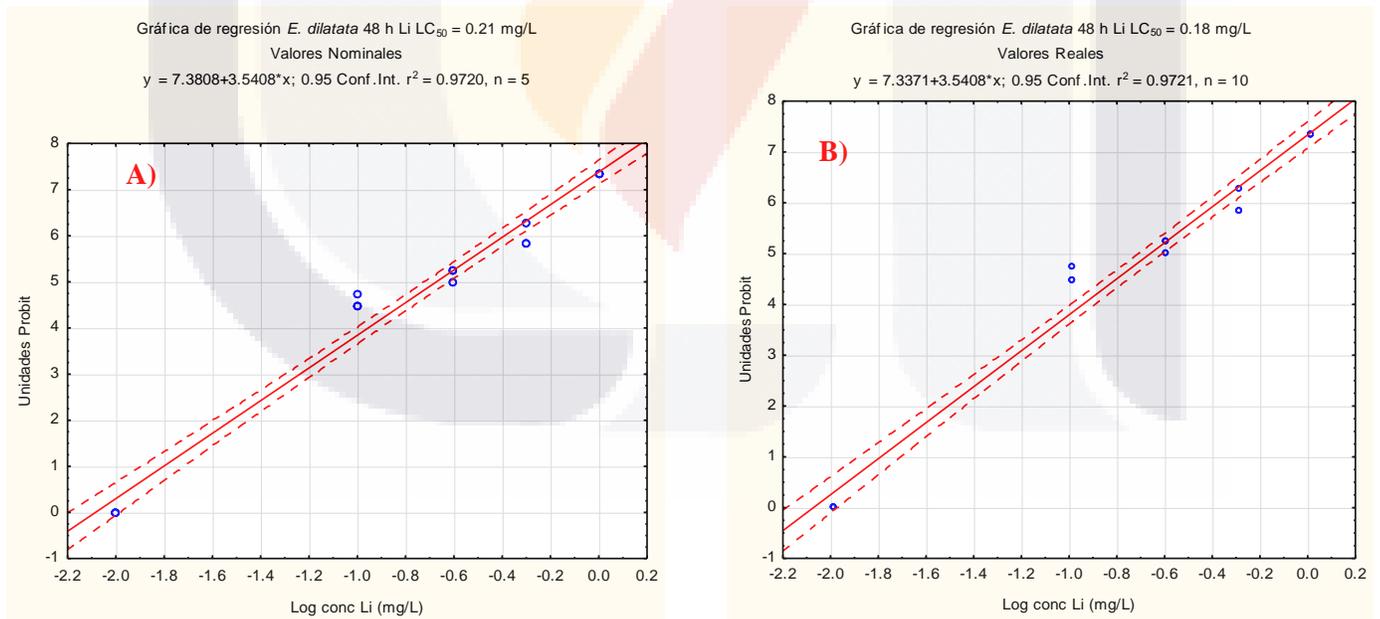


Figura 4. Pruebas agudas de 48 hr con *Euchlanis dilatata*. Gráficas de regresión lineal entre la mortalidad en Unidades Probit de *Euchlanis dilatata* y el Log de la concentración de Li. A) Valores nominales y B) Valores Reales.

7.2 Pruebas Crónicas

En la Tabla 3 se presentan los parámetros calculados para las pruebas crónicas que miden la Tasa intrínseca de Crecimiento (“r”) y la prueba de Inhibición de la Ingestión (IIng) de *E. dilatata*. En ambas pruebas la NOEC < LC₁₀ < LOEC. El R² de las dos pruebas fue mayor a 0.80 y el CV% fue inferior al 10%. La tasa intrínseca de crecimiento “r” se vio ligeramente afectada, ya que para observar un efecto sobre la reproducción se requirió de altas concentraciones de litio (3.93 mg L⁻¹).

En la prueba de la IIng, el 50% de la ingestión se disminuyó con una concentración de 0.73 mg L⁻¹ de Li, al comparar la EC₅₀ de la “r” y la EC₅₀ de IIng, se encontró que la EC₅₀ de la IIng fue más sensible.

Tabla 3. Resultados de las pruebas de toxicidad crónica al litio con *Euchlanis dilatata*.

| Parámetro | Reproducción “r” Li (mgL ⁻¹) | Inhibición Ingestión Li (mgL ⁻¹) |
|------------------|---|---|
| NOEC | 0.05 | 0.025 |
| EC ₁₀ | 0.78 | 0.040 |
| LOEC | 0.50 | 0.05 |
| EC ₅₀ | 3.93 | 0.73 |
| CL 95% | 2.35 – 5.52 | 0.15 – 1.32 |
| r ² | 0.8928 | 0.8183 |
| CV % | 3.58 | 3.22 |

Todos los valores en mg L⁻¹. NOEC = Concentración donde no se observa un efecto diferente al control (No Observed Effect Concentration). EC₁₀ = Concentración efectiva en la que se observa el efecto crónico en el 10% de la población. LOEC = Concentración mínima donde se observa un efecto diferente al control (Lowest Observed Effect Concentration). EC₅₀ = Concentración efectiva en la que se observa el efecto crónico en el 50% de la población. LC 95% = Límites de confianza al 95% para los valores de la EC₅₀.

Las gráficas de regresión lineal de las pruebas de la “r” y de la Inhibición de la Ingestión se muestran en las figuras 5 y 6 respectivamente.

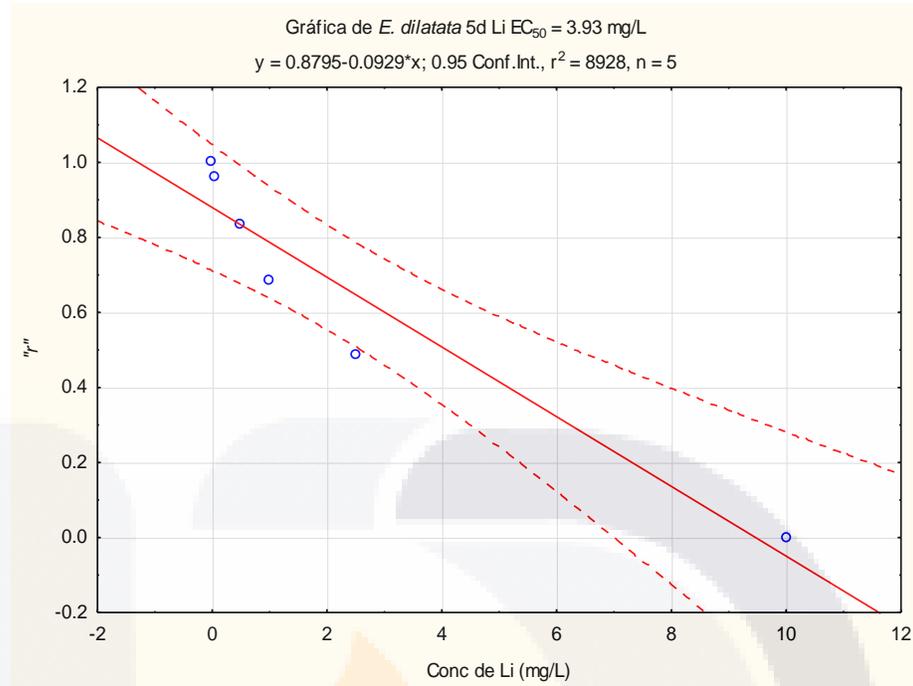


Figura 5. Prueba crónica de medición de la Tasa intrínseca de crecimiento “r”. Gráfica de regresión lineal entre “r” de *Euchlanis dilatata* y la concentración de Li.

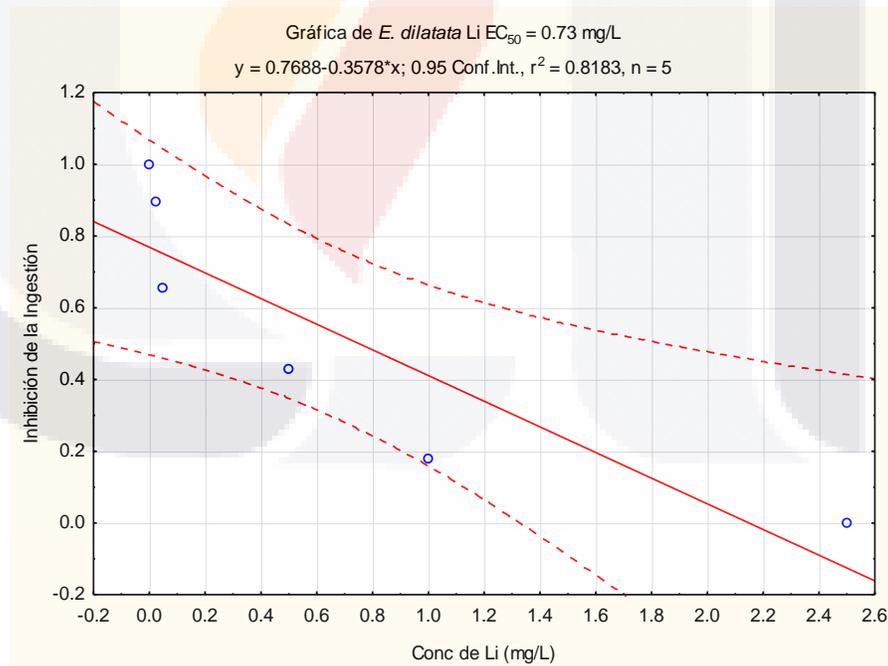


Figura 6. Prueba crónica de medición de la Inhibición de la Ingestión. Gráfica de regresión lineal entre la Inhibición de la Ingestión de *Euchlanis dilatata* y la concentración de Li.

El análisis de concentraciones reales de Litio en los días 0, 3 y 5 en los diferentes tratamientos utilizados durante la prueba de toxicidad crónica de 5 días se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Determinación de la concentración de litio (mgL^{-1}) mediante absorción atómica durante pruebas estándar de toxicidad crónica de 5 días

| Tratamiento | Concentración nominal (mgL^{-1}) | Día 0 | Día 3 | Día 5 |
|-----------------------|---|-------------------|-------------------|-------------------|
| EPA | 0.00 | N.D. | N.D. | N.D. |
| EPA-Li | 1.00 | 0.81 ± 0.002 | 0.82 ± 0.002 | 0.96 ± 0.003 |
| EPA-Li- <i>Chl</i> | 1.00 | 0.81 ± 0.003 | 0.81 ± 0.003 | 0.95 ± 0.002 |
| Li- <i>Chl</i> | 1.00 | 0.82 ± 0.002 | 0.832 ± 0.002 | 0.943 ± 0.003 |
| EPA-Li- <i>Chl-Rt</i> | 0.050 | 0.045 ± 0.002 | 0.021 ± 0.001 | N.D. |
| EPA-Li- <i>Chl-Rt</i> | 0.50 | 0.443 ± 0.002 | 0.310 ± 0.002 | N.D. |
| EPA-Li- <i>Chl-Rt</i> | 1.00 | 0.761 ± 0.01 | 0.07 ± 0.001 | 0.004 ± 0.002 |
| EPA-Li- <i>Chl-Rt</i> | 2.5 | 2.29 ± 0.013 | 1.75 ± 0.134 | 1.21 |
| EPA-Li- <i>Chl-Rt</i> | 10.0 | 8.77 ± 0.125 | 7.020 ± 0.046 | 5.27 |
| CA-Li | 0.50 | 0.487 ± 0.033 | 0.495 ± 0.021 | 0.546 ± 0.015 |

Los valores dados son medias más 1SD. $n = 3$ para todos los tratamientos. Los tratamientos corresponden a EPA: medio EPA solo; EPA-Li: medio EPA más la concentración nominal del tóxico; EPA-Li-*Chl*: medio EPA más la concentración nominal del tóxico más 1×10^6 células/mL de *Chlorella vulgaris*; Li-*Chl*: concentración nominal del tóxico más 1×10^6 células/mL de *Chlorella vulgaris*; EPA-Li-*Chl-Rt*: medio EPA más la concentración nominal del tóxico más 1×10^6 células/mL de *Chlorella vulgaris*, más 5 neonatos de *Euchlanis dilatata*; CA-Li: Control analítico de Litio; ND: No Detectado, $r^2 = 0.9998$, Técnica de Flama Aire-Acetileno, límite de cuantificación 0.05 mg L^{-1} .

Tabla 5. Determinación de la concentración real de litio, sodio y calcio (mgL^{-1}) en el medio EPA mediante absorción atómica.

| Elemento | Concentración en medio EPA (mg L^{-1}) |
|----------|---|
| Li | N.D. |
| Na | 9.63 ± 0.13 |
| Ca | 3.87 ± 0.21 |

Los valores dados son medias más 1SD. $n = 3$. EPA: medio EPA solo; $r^2 = 0.9998$, Técnica de Flama Aire-Acetileno, límite de cuantificación 0.05 mg L^{-1} para Li y Na y 0.02 mg L^{-1} para Ca.

En la figura 7 se muestran las imágenes de la prueba de Inhibición de la Ingestión, en la cual se observa mayor cantidad de microesferas en el control negativo al compararlo con la exposición al litio durante 1 hora.

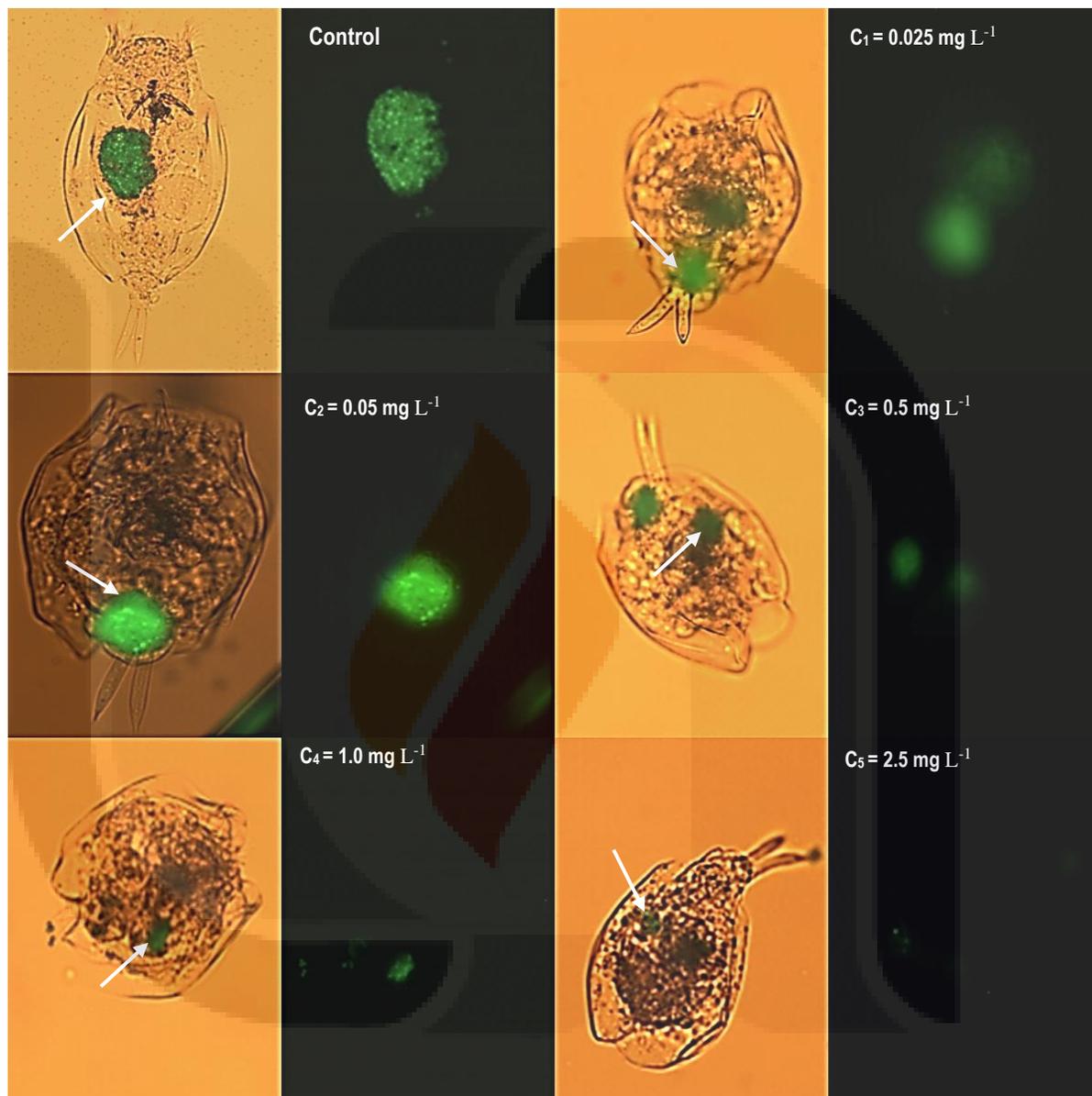


Figura 7. Prueba de Inhibición de la Ingestión con *Euchlanis dilatata*. La flecha indica las microesferas en distintos órganos. Barra 20 μm , $n = 5$, magnificación 100x. Las fotografías que se muestran son de las concentraciones de exposición utilizadas.

7.3 Bioconcentración

El peso seco de *E. dilatata* fue de 1.31 ± 0.088 $\mu\text{g}/\text{individuo}$ (Hernández-Flores *et al.* 2020). El Factor de Bioconcentración (BCF) de Li se determinó mediante cuantificación directa de los extractos con rotíferos expuestos durante 24 h a la LOEC y LC₅₀ por Espectrofotometría de Absorción Atómica. Se utilizaron dos métodos para determinar la cantidad de litio acumulada (q) en ($\mu\text{g}/\text{g}$): 1) Conversión de lecturas directas en unidades de concentración a $\mu\text{g}/\text{g}$, y 2) Procedimiento descrito por Rubio-Franchini, 2009. El desarrollo de ambos métodos de determinación arrojó los mismos resultados, debido a la similitud entre ellos.

En la Tabla 6 se muestran los valores de la q , el BCF y las cargas corporales letales (LBB) y crónicas (CBB). Los valores de Cargas Corporales Letales (LBB, por sus siglas en inglés) mostraron que el Li, con una concentración interna de 58.42 $\mu\text{g}/\text{g}$ tiene un efecto letal en el 50% de la población que fue expuesta durante 24 h a la LOEC, por otra parte, se requiere de una concentración interna de 63.09 $\mu\text{g}/\text{g}$ para lograr el mismo efecto en el 50% de la población que fue expuesta a la LC₅₀ (Tabla 6). Los valores de Cargas Corporales Crónicas (CBB, por sus siglas en inglés) mostraron que una carga de 10.85 $\mu\text{g}/\text{g}$ de Li reduce la ingestión del 50 % de la población cuando estos son sometidos a la LOEC, mientras que para lograr un efecto crónico en el crecimiento se requiere de una carga de 58.42 $\mu\text{g}/\text{g}$.

Tabla 6. Factor de Bioconcentración (BCF), Carga Corporal Letal (LBB), Carga Corporal Crónica (CBB_{Ing} = Inhibición de la ingestión, CBB_γ = Tasa intrínseca de Crecimiento, y Cantidad de litio acumulada (q) en *Euchlanis dilatata* correspondiente a la LOEC y LC₅₀ aguda después de 24 h. Para todos los valores (media \pm 1 SD, n = 3).

| Concentración real de exposición ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | Concentración de litio en extracto con rotíferos ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | Concentración de litio acumulada calculada q ($\mu\text{g}/\text{g}$) | Carga corporal ($\mu\text{g}/\text{individuo}$) | BCF (L Kg ⁻¹) | LBB ($\mu\text{g}/\text{g PS}$) | CBB _γ ($\mu\text{g}/\text{g PS}$) | CBB _{Ing} ($\mu\text{g}/\text{g PS}$) |
|--|--|---|---|---------------------------|-----------------------------------|--|--|
| 24h-LOEC = 0.98 | $1.9 \times 10^{-3} \pm 2.8 \times 10^{-4}$ | 14.58 ± 2.02 | $1.9 \times 10^{-8} \pm 3.0 \times 10^{-9}$ | 14.87 | 38.06 | 58.42 | 10.85 |
| 24h-LC ₅₀ = 2.44 | $4.6 \times 10^{-3} \pm 1.0 \times 10^{-3}$ | 39.19 ± 4.60 | $5.1 \times 10^{-8} \pm 6 \times 10^{-9}$ | 16.06 | 41.09 | 63.09 | 11.75 |

7.4 Análisis de la distribución del litio en el cuerpo del rotífero *Euchlanis dilatata* mediante difracción de Rayos-X con microscopio electrónico de barrido.

El análisis de la composición elemental de las estructuras externas e internas del rotífero *Euchlanis dilatata* mostró que el carbono, oxígeno, magnesio, calcio, sodio, fierro, sílice, cloro y cobre están presentes en los organismos de control (Figura 8A y B, y Tabla 7). Sin embargo, en nuestro microanálisis de rayos X de dispersión de energía no fue posible detectar el litio en ninguno de los animales analizados y esto se debe principalmente a que el software de cuantificación no considera a los elementos de masas ligeras, tales como el H, Be y Li. No obstante, se pudo observar de forma indirecta el efecto tóxico que ejerce el litio sobre las estructuras de los rotíferos.

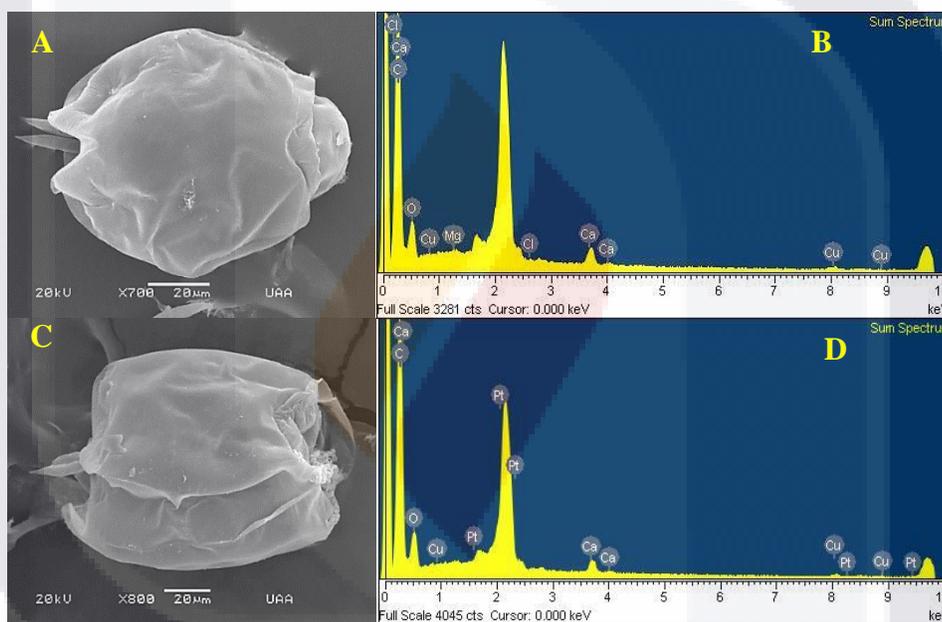


Figura 8. Microanálisis de rayos X de en el rotífero *Euchlanis dilatata* A y B) Composición elemental en los organismos control, C y D) Composición elemental en los organismos expuestos a la CL₅₀ de Li.

Para este estudio, se analizaron cinco sitios de interés: corona, lórica, pie, antenas y partes internas (músculo, estómago, vitelario entre otros) (Figura 9). Curiosamente, nuestro microanálisis de rayos X mostró una disminución significativa del Ca y Cu en la lórica de los animales expuestos a 2.5 mg.L⁻¹ de Li en comparación con los animales de control (Tabla 5). Por otra parte, se observó un aumento significativo en la concentración de Ca en las antenas de los organismos intoxicados en comparación con los organismos control (Tabla 7).

Tabla 7. Microanálisis de difracción de rayos X de la composición por sitio de interés de *Euchlanis dilatata* en los organismos control e intoxicados con la CL₅₀ de Li. (media ± 1 SD, n = 3).

* Diferencia significativa del control (p < 0.05).

| Elemento | % Composición Corona | | % Composición Lórica | | % Composición Pie | | % Composición Antena | | % Composición Interna | |
|-----------------|----------------------------------|--|----------------------------------|--|----------------------------------|--|----------------------------------|--|----------------------------------|--|
| | <i>E. dilatata</i> Control (N=5) | <i>E. dilatata</i> Intoxicado con Li (N=5) | <i>E. dilatata</i> Control (N=5) | <i>E. dilatata</i> Intoxicado con Li (N=6) | <i>E. dilatata</i> Control (N=5) | <i>E. dilatata</i> Intoxicado con Li (N=5) | <i>E. dilatata</i> Control (N=5) | <i>E. dilatata</i> Intoxicado con Li (N=5) | <i>E. dilatata</i> Control (N=5) | <i>E. dilatata</i> Intoxicado con Li (N=7) |
| Carbono | 66.50 ± 3.38 | 65.24 ± 2.31 | 68.70 ± 3.78 | 64.11 ± 1.55 | 72.30 ± 5.55 | 69.09 ± 1.25 | 66.54 ± 3.39 | 67.48 ± 3.57 | 70.59 ± 1.42 | 64.25 ± 1.18 |
| Oxígeno | 28.02 ± 5.30 | 21.76 ± 3.17 | 24.31 ± 7.71 | 21.05 ± 2.57 | 20.59 ± 1.85 | 19.68 ± 2.09 | 28.22 ± 1.05 | 20.27 ± 0.72 | 23.49 ± 4.01 | 21.10 ± 3.61 |
| Magnesio | 0.23 ± 0.07 | 0.19 ± 0.16 | 0.26 ± 0.18 | 0.21 ± 0.20 | 0.40 ± 0.40 | 0.09 ± 0.16 | 0.235 ± 0.13 | 0.09 ± 0.08 | 0.33 ± 0.14 | 0.15 ± 0.16 |
| Sílice | 0.0 | 0.38 ± 0.48 | 0 | 0.12 ± 0.21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.61 ± 0.39 | 0 |
| Sodio | 0.0 | 0.13 ± 0.22 | 0.21 ± 0.12 | 0 | 0.14 ± 0.007 | 0 | 0 | 0.10 ± 0.17 | 0 | 0.35 ± 0.61 |
| Calcio | 2.34 ± 0.52 | 2.13 ± 0.28 | 4.77 ± 0.52 | 2.11 ± 0.31* | 1.91 ± 1.64 | 1.28 ± 0.06 | 1.07 ± 0.11 | 3.93 ± 0.09* | 2.23 ± 0.81 | 2.29 ± 0.20 |
| Fierro | 0 | 0.15 ± 0.13 | 0 | 0 | 0.52 ± 0.55 | 0.08 ± 0.07 | 0.38 ± 0.32 | 0.11 ± 0.19 | 0 | 0 |
| Cobre | 2.87 ± 1.71 | 2.15 ± 0.61 | 3.62 ± 1.56 | 1.93 ± 0.18* | 4.37 ± 1.73 | 2.09 ± 0.25 | 2.91 ± 1.38 | 2.48 ± 1.21 | 2.47 ± 1.20 | 2.28 ± 0.64 |
| Rubidio | 0 | 0.25 ± 0.44 | 0 | 1.47 ± 0.36 | 0 | 0.25 ± 0.43 | 0 | 0.67 ± 1.15 | 0 | 0.63 ± 1.09 |
| Platino | 0 | 4.54 ± 0.41 | 0 | 5.81 ± 0.24 | 0 | 3.85 ± 0.36 | 0 | 4.26 ± 0.36 | 0 | 6.26 ± 0.57 |

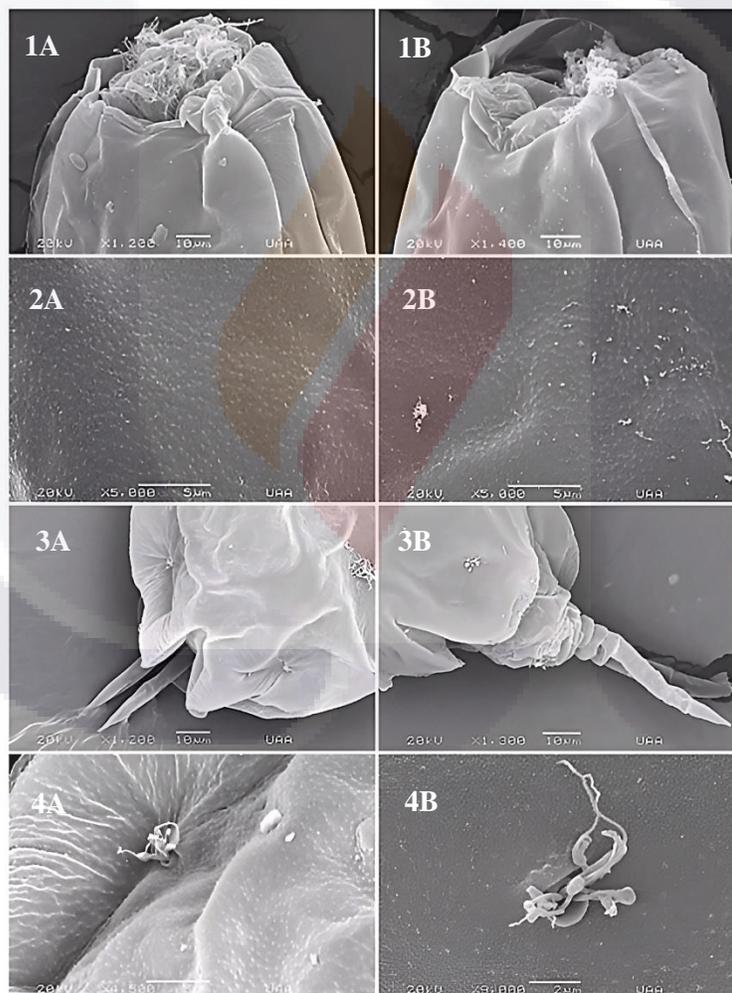


Figura 9. Microfotografías SEM de los sitios de interés para cuantificación elemental en el rotífero *Euchlanis dilatata*: 1A) Corona en el control, 1B) Corona intoxicada con Li; 2A) Lórica en el control, 2B) Lórica intoxicada con Li, 3A) Pie en el control, 3B) Pie intoxicada con Li, 4A) Antena en el control, 4B) Antena intoxicada con Li.

En la figura 10 se muestran gráficamente la descalcificación en la lóric de *E. dilatata*, así como la calcificación observada en las antenas del organismo.

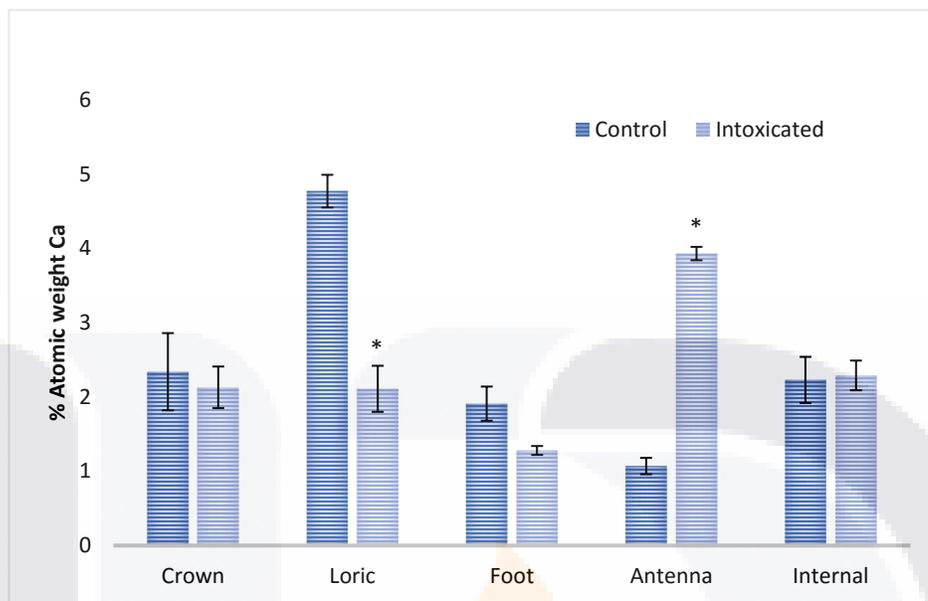


Figura 10. Comparación de medias en % peso atómico Ca para dos tratamientos (Control e intoxicado con la LC₅₀) en cinco sitios de interés. * Diferencia significativa respecto al control ($p < 0,05$).de Li. (Media \pm 1 SD, n = 3)

En la figura 11 se muestran gráficamente la reducción del % de Cu en la lóric de *E. dilatata*.

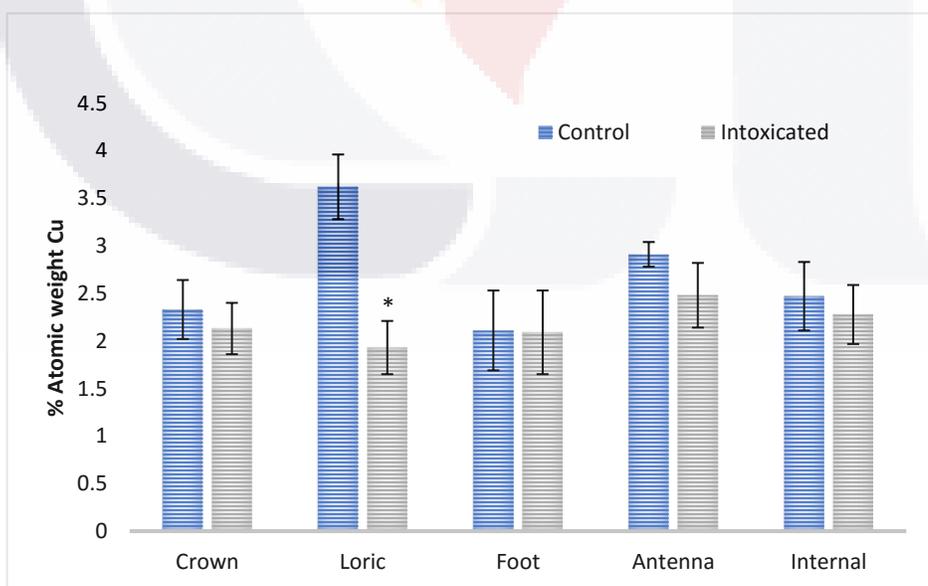


Figura 11. Comparación de medias en % peso atómico Cu para dos tratamientos (Control e intoxicado con la LC₅₀) en cinco sitios de interés. * Diferencia significativa respecto al control ($p < 0,05$).de Li. (Media \pm 1 SD, n = 3).

Para poder inferir la posible ruta de ingreso y distribución del litio en el cuerpo del rotífero, se realizaron pruebas extras con Espectrofotometría de Absorción Atómica utilizando la técnica de Flama-Acetileno para cuantificar el contenido de calcio en *E. dilatata* antes y después de la intoxicación con la 24h-LC₅₀ (2.56 mg L⁻¹). En la tabla 7 se muestran los valores reales de calcio antes y después de la exposición, así como también la concentración real de calcio en el medio EPA en mg L⁻¹.

Tabla 8. Concentraciones reales de Calcio antes y después de la exposición con la 24h-LC₅₀.

| Control (mg L ⁻¹) | Intoxicado con la LC ₅₀ ((mg L ⁻¹) | EPA (mg L ⁻¹) |
|-------------------------------|---|---------------------------|
| 0.59 ± 0.02 | * 0.82 ± 0.04 | 3.87 ± 0.21 |

Los valores dados son medias más 1SD. n = 3 para todos los tratamientos. Los tratamientos corresponden a Control: 100 organismos en medio EPA sin litio; Intoxicado con la LC₅₀: 100 organismos en medio EPA expuestos a 2.56 mg L⁻¹, EPA: medio EPA solo; r² = 0.9998, Técnica de Flama Aire-Acetileno, límite de cuantificación 0.02 mg L⁻¹. * Diferencia significativa del control (p = 0.012 < 0.05)

8. DISCUSIÓN

El litio es un elemento potencialmente tóxico que en altas concentraciones afecta negativamente la salud humana y los ecosistemas. Esta contribución genera el primer reporte toxicológico del litio en México, que integra valores de toxicidad aguda y crónica, factores de bioconcentración, cargas corporales letal y crónica, así como información composicional de diferentes sitios de análisis del rotífero dulceacuícola *E. dilatata*.

Los resultados de este estudio mostraron que el Li es biológicamente activo, es decir, tóxico para *E. dilatata* en pruebas agudas bajo concentraciones letales medias (CL₅₀) reales de 0.18 y 2.56 mg L⁻¹ durante 24 y 48 h de exposición respectivamente (Tabla 2, Figuras 3B y 4B), sin embargo, hay poca atención prestada a Li en los textos toxicológicos. Estos valores caen dentro de los valores reportados para Li en el medio ambiente. Por tanto, se puede decir que son ambientalmente relevantes. El período de exposición más prolongado afectó significativamente a los organismos a bajas concentraciones, esto es de esperarse, puesto que los organismos están sometidos a estrés por mayor tiempo y en ausencia de alimentos. González-Figueroa (2021) reportó para *E. dilatata* una CL₅₀ de 0.162 mg L⁻¹ en su exposición al plomo durante 24 h; mientras que Arias-Almeida (2011) reportó 0.0353 mg L⁻¹ para el mismo metal y organismo, pero en 48 h de exposición.

Los valores reportados para *E. dilatata* en este trabajo, son similares a los reportados en la literatura científica para otros invertebrados dulceacuícolas (Tabla. 9) Comparando la concentración letal real, LC₅₀, de este estudio (2.56 mg L⁻¹) a 24h de exposición (24h-LC₅₀) (Tabla 2, Figura 3B), con los valores letales de referencia, se observó que *E. dilatata* mostró sensibilidad al Li en relación con otras especies de cladóceros expuestos también a 24 h, por ejemplo, para *Daphnia magna* con 3.62 mg L⁻¹ (Hyo *et al* 2017) y *Ceriodaphnia dubia* con 2.0 mg L⁻¹ (Kszos *et al* 2003).

Tabla 9. Comparación de valores LC₅₀ de litio en otros invertebrados y una especie de pez

| Especie | LC ₅₀ (mg L ⁻¹) | Experimento | Na (mg L ⁻¹) | Referencia |
|----------------------------------|--|-------------|--------------------------|-------------------------|
| <i>Daphnia magna</i> | 3.62 | 24 h | 17.73 | Hyo <i>et al</i> 2017 |
| <i>Euchlanis dilatate</i> | 2.56 | 24 h | 9.63 | Presente estudio |
| <i>Ceriodaphnia dubia</i> | 2.00 | 24 h | ---- | Kszos <i>et al</i> 2003 |
| <i>Daphnia magna</i> | 24.0 | 48 h | 26.29 | Long <i>et al</i> 1998 |
| <i>Daphnia magna</i> | 24.8 | 48 h | ---- | ECHA, 2021 |
| <i>Euchlanis dilatate</i> | 0.18 | 48 h | 9.63 | Presente estudio |

| | | | | |
|----------------------------|-------|------|-------|------------------------|
| <i>Daphnia magna</i> | < 1.2 | 64 h | 6.5 | Anderson 1948 |
| <i>Pimephales promelas</i> | 42.0 | 48 h | 26.29 | Long <i>et al</i> 1998 |

Comparando los valores letales en su exposición al Li durante 48 h, se observa que la Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas (ECHA, por sus siglas en inglés) reporta para *Daphnia magna* una 48h-LC₅₀ de 24.8 mg L⁻¹; de la misma manera Long *et al* (1998) reportan una LC₅₀ de 24.0 mg L⁻¹ para el mismo organismo, estos valores son 133 veces mayor que el reportado (0.18 mg L⁻¹) para *E. dilatata* en este estudio (Tabla 9). Esta diferencia en concentración está directamente relacionada con la presencia de sodio en el medio que contiene a los organismos, por ejemplo, el medio EPA contiene 96 mg de NaHCO₃ por litro, lo cual es equivalente a 9.63 mg L⁻¹ de Na (Tabla 5) con esta concentración de sodio se obtuvo para *E. dilatata* una 24h-LC₅₀ de 2.56 mg L⁻¹ (Tabla 9), en cambio, el medio ISO de la OECD contiene 17.63 mg L⁻¹ y con esta concentración de sodio iónico se reportó para *Daphnia magna* una 24h-LC₅₀ de 3.62 mg L⁻¹ (Hyo *et al* 2017).

La notable diferencia entre nuestra 48h-LC₅₀ y la reportada por Long *et al* (1998), se basa en el diluyente utilizado. En el estudio de Long se usó agua de la Bahía de la Alta Saginaw del lago Hurón, aunque no se reportó la concentración de Na se informó que el agua tenía una conductividad de 160-270 UMHO/cm. Suponiendo una composición de bicarbonato estándar, el agua del lago Huron podría haber contenido razonablemente sodio a una concentración de 26.29 mg L⁻¹. Las pruebas para determinar la toxicidad de Li para *Daphnia magna* mostraron que esa concentración de Na era suficiente para influir en la supervivencia de *Daphnia magna* a las concentraciones de Li (24 mg L⁻¹), en cambio, en nuestro estudio el contenido de sodio en el medio EPA (9.63 mg L⁻¹) no le brindó suficiente protección a *E. dilatata* contra los efectos letales del Li.

Es importante destacar que la duración de la exposición de las especies acuáticas a las dosis de Li, así como la concentración de sodio influyó en la magnitud de la toxicidad del Li (Tabla 9). Encontrar que la toxicidad de Li para los organismos acuáticos se ve afectada por la concentración de sodio tal vez no sorprenda, dado que el Li se sabe que interfiere con las acciones de sodio en humanos y otros vertebrados. En los mamíferos, la acción potencial de Li incluye casi todos los procesos que involucran la absorción celular o liberación de sodio, potasio, calcio o magnesio, el segundo sistema mensajero y la mayoría de los neurotransmisores conocidos (Kszos *et al*, 2003).

Los resultados obtenidos en las pruebas crónicas mostraron que el rotífero *E. dilatata* redujo su ingestión a bajas concentraciones de Li ($EC_{50II} = 0.73 \text{ mg L}^{-1}$, Tabla 10), por otra parte, para observar un efecto sobre la reproducción se requiere de una concentración mayor ($EC_{50r} = 3.93 \text{ mg L}^{-1}$, Tabla 10) a la 24h- LC_{50} . Esta resistencia a los efectos sobre la reproducción puede deberse a que Li podría estimular la producción de lípidos en *Chlorella vulgaris*. Algunos autores reportan un incremento en la cantidad de biomasa y contenido lipídico en diferentes especies de plantas cuando éstas fueron expuestas a bajas concentraciones de Li (Shahzad *et al.*, 2016; Schrauzer *et al.*, 2002; Robinson *et al.*, 2018).

Por lo tanto, las microalgas podrían absorber una mayor cantidad de Li contribuyendo al crecimiento de *E. dilatata* por la presencia de un mayor contenido lipídico en la comida y mejorando la resistencia contra Li por la ingesta de algas (Jeon *et al.*, 2010).

La interacción entre el tóxico y el nivel de alimentos sobre el crecimiento poblacional de los organismos ha sido discutida por diferentes autores. Sarma *et al* (2006) estudiaron el impacto combinado de cuatro concentraciones de metilparatión y tres densidades del alga verde *Chlorella vulgaris* sobre el crecimiento poblacional de *Euchlanis dilatata*. En general, a cualquier concentración del tóxico los rotíferos alimentados con mayor densidad de algas mostraron un crecimiento de la población significativamente mayor en comparación con aquellos con niveles de alimentos más bajos. Kluttgen *et al* (1996) encontraron que la toxicidad de la 3,4-dicloroanilina para los cladóceros *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia quadrangula* fue significativamente influenciada por el alga verde *Scenedesmus subspicatus*. Por lo tanto, en este estudio, un posible aumento en la densidad del alga *Chlorella vulgaris* (estimulada por la presencia de Li) pudo influir en la tolerancia al tóxico sobre el crecimiento poblacional de *E. dilatata*, ya que la interacción entre el alga y el Li, puede hacer que este elemento no este biodisponible por algún mecanismo de destoxificación del alga, y que forme alguna especie química que no permita la absorción. Posteriormente, el efecto de mortalidad afecta la reproducción como se observa cuando se compara los valores de LC_{50} y EC_{50r} .

Por otra parte, en la prueba de inhibición de la ingestión se observó poca tolerancia al litio ($EC_{50II} = 0.73 \text{ mg L}^{-1}$, Tabla 10). Algunos autores afirman que los rotíferos poseen la capacidad de seleccionar las partículas que serán destinadas hacia el sistema digestivo, esta habilidad es regulada por el sistema nervioso, que al momento de estar en contacto con un

tóxico podría ser inhibida o alterada manifestándose como una reducción de la ingestión (Ferrando y Andreu 1993). Clément *et al* (1980) argumentan que los rotíferos poseen cilios adheridos al mástax lo cual le permite seleccionar las células del alga con menos iones metálicos, lo cual infiere otra posibilidad de reducción de la ingestión. De igual manera, Hernández Flores *et al.* (2020) sugieren que existe un mecanismo en *E. dilatata* en el cual la toxicidad de los metales inhibe la tasa de ingestión, pero no afecta significativamente la reproducción, proponiendo que el rotífero es capaz de tolerar los efectos adversos sobre la reproducción al seleccionar las partículas de alga menos intoxicadas durante la exposición de cinco días.

Hay pocos datos publicados disponibles con los que comparar los resultados de nuestras pruebas crónicas. Nuestro valor crónico para la reproducción de *E. dilatata* ($EC_{50}^{R^*} = 3.93, \text{ mg L}^{-1}$, Tabla 10) es muy semejante al reportado por Kszos *et al* (2003) para *Ceriodaphnia dubia* ($EC_{50} > 4.0 \text{ mg L}^{-1}$, Tabla 10), sin embargo, Kszos *et al.* (2003) también reporta un valor menor ($EC_{50} 0.72 \text{ mg L}^{-1}$, Tabla 10) para la misma especie y el mismo experimento de 7d; nuevamente es notable la influencia de la concentración de sodio respecto a la magnitud de la toxicidad de Li también, en pruebas crónicas.

Tabla 10. Comparación de valores EC_{50} de litio en otros invertebrados y una especie de pez

| Especie | EC_{50} (mgL^{-1}) | Experimento | Na (mg L^{-1}) | Referencia |
|----------------------------------|---------------------------------|-------------------|---------------------------|---------------------------|
| <i>Ceriodaphnia dubia</i> | > 4.0 | Reproducción 7 d | 17.00 | Kszos <i>et al</i> (2003) |
| <i>Ceriodaphnia dubia</i> | 0.72 | Reproducción 7 d | 2.82 | Kszos <i>et al</i> (2003) |
| <i>Daphnia magna</i> | < 0.46 NOEC | Reproducción 48 d | ---- | ECHA, 2016 |
| <i>Euchlanis dilatata</i> | 3.93 | Reproducción 5 d | 9.63 | Presente estudio |
| <i>Daphnia magna</i> | > 1.7 | Reproducción 21 d | ---- | ECHA, 2021 |
| <i>Pimephales promelas</i> | 2.47 | Reproducción 7 d | 2.82 | Kszos <i>et al</i> (2003) |
| <i>Elmia clavaeformis</i> | 0.15 | I. Ingestión | | Kszos <i>et al</i> (2003) |
| <i>Euchlanis dilatata</i> | 0.73 | I. Ingestión | 9.63 | Presente estudio |

La exposición a la LOEC y LC_{50} durante 24 h en ausencia de alimentos permitió la absorción del metal, evidentemente la concentración de exposición más alta se tradujo en mayor concentración de Li acumulada en los organismos ($q_{LOEC} = 14.58 \mu\text{g g}^{-1}$, $q_{LC50} = 39.19 \mu\text{g g}^{-1}$, Tabla 6). El BCF es el resultado de la división de la cantidad acumulada del tóxico en los organismos (q) entre la concentración real a la cual fueron expuestos. En este estudio se

determinó un BFC de 14.87 en su exposición a la 24h-LOEC y 16.06 en 24h-LC₅₀ respectivamente (Tabla 6).

Este estudio integra los primeros datos de bioconcentración de Li, y al ser de los primeros trabajos realizados en este campo, no existen muchos datos científicos contra que comparar nuestros factores de bioconcentración (FBC). Ştefan *et al.* (2019) determinaron los FBC para litio en diferentes partes anatómicas del pez, el valor más semejante a nuestros datos es el obtenido para los huesos (13.2 L/Kg, Tabla 11). A pesar de la notable cercanía de los valores, es necesario considerar que es una especie de pez de mayor tamaño con una posible capacidad mayor de bioconcentración.

Los valores de FBC registrados de litio para *E. dilatata* (Tabla 6), son clasificados como no peligrosos, ya que, según la Comisión Europea (EU, por sus siglas en inglés, 1996) se recomienda que un FBC sea mayor que 100 para que sea clasificado como posiblemente peligroso (incluyendo los metales).

Tabla 11. Comparación de valores FBC de litio en otros invertebrados y una especie de pez.

| Especie | FBC | Unidades | Referencia |
|---|--------------|---|---------------------------|
| <i>Invertebrados acuáticos</i> | 1 | L/Kg (Valor default para Ca, Na, K, Mg) | ERD-AG-003 (1998) |
| <i>Rudd (Scardinius Erythroptalmus)</i> | 5 | L/Kg (Branquias) | Ştefan <i>et al.</i> 2019 |
| <i>Rudd (Scardinius Erythroptalmus)</i> | 25 | L/Kg (Escamas) | Ştefan <i>et al.</i> 2019 |
| <i>Rudd (Scardinius Erythroptalmus)</i> | 13.2 | L/Kg (Huesos) | Ştefan <i>et al.</i> 2019 |
| <i>Euchlanis dilatata</i> | 14.87 | L/Kg | Presente estudio |
| <i>Euchlanis dilatata</i> | 16.06 | L/Kg | Presente estudio |

En términos de Carga corporal letal (LBB), en nuestro estudio la LBB expuesta a la concentración 24h-LOEC es muy semejante a la 24h-LC₅₀ (38.06 y 41.09 µg g⁻¹ PS respectivamente, Tabla 6), si se realizara una serie de concentraciones de exposición extras (tal vez 3, 4 o 5 mg L⁻¹) seguramente encontraríamos valores de LBB constantes. Kenneth *et al.* (2010) evaluaron el efecto del tiempo y concentración de endosulfán sobre la LBB en el pez tilapia, en este estudio demostraron que la LBB puede depender del tiempo de exposición

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

durante el período inicial de exposición y de una concentración de exposición más baja, es decir, antes de que se alcance el estado estacionario. Sin embargo, a medida que se alcanza el equilibrio, la LBB permanece constante y se vuelve independiente del tiempo de exposición y la concentración.

De aquí deriva la importancia de elegir las LBB sobre las LC₅₀ al momento de una evaluación toxicológica; la CL₅₀ nos proporciona la potencia toxicológica del producto químico una vez dentro del organismo, sin embargo, las pruebas de LC₅₀ tienen un valor limitado ya que los resultados son válidos solo para la especie que se prueba y las condiciones específicas utilizadas (McCarty,1986). Una de las principales deficiencias es que no proporciona información sobre la concentración de la sustancia química en el cuerpo o, más precisamente, sobre el lugar de la acción tóxica.

Entonces, en comparación con LC₅₀, que relaciona el efecto agudo con la concentración de exposición ambiental, la LBB incluye biodisponibilidad, bioacumulación y biotransformación (De Maagd, 1996). Por lo tanto, se obtiene una mejor descripción de la toxicidad intrínseca de las sustancias químicas midiendo la LBB, ya que es independiente de la concentración y el tiempo de exposición, si en el momento de la muerte se alcanza el equilibrio en la distribución entre el organismo y su entorno.

La misma situación ocurre al comparar las cargas corporales crónicas tanto para la reproducción como inhibición de la ingestión. Las cargas corporales nos indicaron la cantidad del tóxico que presentó los efectos adversos (crónicos o agudos) y esta información es de utilidad, sobre todo en estudios enfocados en bioacumulación, ya que puede ayudar a para saber si es tóxico o no una sustancia recolectada del campo.

Nuestro microanálisis de rayos X de energía dispersiva indicó descalcificación en la lórica del rotífero y un aumento en el porcentaje de Ca en las antenas del organismo después de una exposición de 24 h a Li. Aunque las funciones biológicas y la esencialidad del Li en los organismos vivos no están completamente estudiadas, el Li tiene una afinidad notablemente alta para reemplazar los cationes (Na⁺, K⁺, Mg²⁺ y Ca²⁺) en organismos vivos debido a su radio más pequeño y alta fuerza de polarización (Sapse y Schleyer 1995). Entonces, esta reducción de Ca en la lórica de los rotíferos posiblemente se deba por la sustitución de Ca por Li.

Se ha informado de descalcificación por metales en otros invertebrados. Alvarado-Flores *et al* (2012), informó descalcificación en el rotífero *Brachionus calyciflorus* después de su exposición durante 24h al plomo; de la misma manera Hernández-Ruíz *et al* (2016) observó descalcificación en *L. quadridentata* y *B. calyciflorus* cuándo estaban intoxicados con cromo.

No encontramos información de que la interacción de Li y Ca en el medio ambiente acuático se haya considerado o medido a nivel de organismo. La mayoría de las investigaciones que utilizan invertebrados se han centrado en comprender los mecanismos de transporte de iones a nivel celular mediante el uso de membranas extirpadas de cangrejos (Shetlar y Towle, 1989).

Dado que, en los mamíferos la acción potencial de Li incluye casi todos los procesos que involucran la absorción celular o liberación de sodio, potasio, calcio o magnesio; es razonable suponer que la descalcificación/calcificación en *E. dilata* causada por la presencia de Li se base en interacciones competitivas relacionadas con el intercambio Na/H. Greger (1990) sugirió que Li puede entrar en las células a través de transportadores Na⁺/ H⁺ reemplazando Na⁺, aunque la tasa de transporte máxima es 2 veces más lenta para Li que para Na⁺ consideró que es una vía importante para el ingreso de Li a las células. Una vez dentro de la célula, el Li puede actuar como sustituto del calcio en varios eventos regulatorios intracelulares.

Otro estudio sobre la toxicidad del Li en *Oncorhynchus mykiss* apuntaló algunos mecanismos clave implicados en los efectos negativos inducidos por el Li en la trucha; en particular, la interferencia de Li con el transporte Na⁺ y K⁺. Las branquias de los peces absorben Li en el agua muy probablemente a través de un supuesto canal de Na⁺, y la perturbación iónica en las células del pavimento de las branquias de los peces altera la homeostasis iónica (Bury *et al.*, 2003; Wood, 2001). El Li disminuye la actividad del citrato sintasa branquial y altera la regulación del Na⁺ y K⁺ATPasas, reduciendo así el crecimiento de truchas (Tkatcheva *et al.*, 2007a). Además, Li interrumpió la ultraestructura y la composición lipídica de las branquias de los peces alterando la fluidez de la membrana y aumentó la esfingomielina (Tkatcheva *et al.*, 2004).

Desafortunadamente no se pudo observar de forma directa la vía de entrada y distribución del litio en el organismo, sin embargo, como se discute anteriormente es posible que el metal esté ingresado dentro del cuerpo de *E. dilatata* por algún canal Na/H o Na⁺/K⁺. Para poder inferir una posible ruta de ingreso y distribución, se realizaron pruebas extras para determinar la concentración real de calcio en los organismos antes y después de la exposición al litio. Nuestro análisis por absorción atómica reveló un cambio significativo en la concentración de calcio, de 0.59 a 0.82 mg L⁻¹ en los organismos control y organismos intoxicados respectivamente (Tabla 8). Este aumento en la concentración posterior a la exposición con la 24h-LC₅₀ de litio es concordante con el aumento detectado en las antenas de *E. dilatata* en el microanálisis de rayos X (Tabla 7).

Nuestros resultados confirman el ingreso de Li sobre los organismos expuestos, ya que su efecto tóxico está directamente relacionado con el elemento calcio, por lo tanto, derivado de las propuestas de mecanismos de acción encontrado por diferentes autores discutidos anteriormente, nos da las herramientas para suponer que el Li compite por los sitios de unión de calcio o interfiere con un sistema de intercambio de Na/H o Na⁺/K⁺ en *E. dilatata*.

De acuerdo con la similitud en el radio iónico de plomo y Li, y relacionando la descalcificación de la lóriga del rotífero *Brachionus calyciflorus* reportada por Alvarado-Flores *et al* (2012), nos atrevemos a suponer que el litio ingresa por el sistema digestivo como su principal ruta de absorción en *E. dilatata* y posteriormente después de 24 h, el Li se deposita en la lóriga sustituyendo el calcio por Li lo cual se refleja en la descalcificación indicada en nuestro análisis de rayos X.

Otra posibilidad, es que el Li una vez dentro, puede depositarse en gránulos en el mastax, o en el vitelario, porque son estructuras importantes para los procesos metabólicos y reproductivos en donde puede competir Li por calcio o por otro elemento de radio iónico semejante. Finalmente, derivada de la ya mencionada afinidad del Li por el sodio, potasio, calcio o magnesio, el Li también podría depositarse en los protonefridios del rotífero puesto que estos orgánulos se encargan de la osmorregulación y regulación iónica (Brusca *et al.* 2003). Sin embargo, la ruta de movilización y almacenamiento de Li intracelular todavía no se comprende completamente para *E. dilatata*.

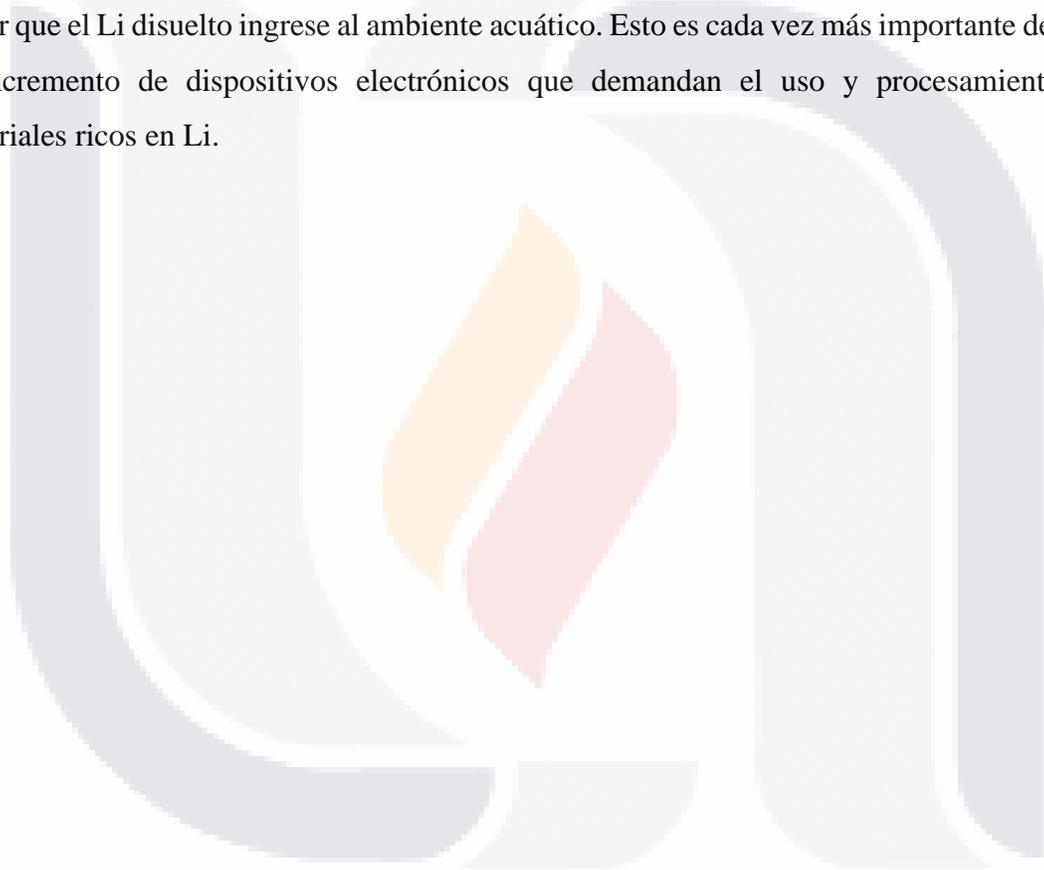
9. CONCLUSIONES

Esta contribución genera el primer reporte toxicológico del litio en México, que integra valores de toxicidad aguda y crónica, factores de bioconcentración, cargas corporales e información composicional de diferentes sitios de análisis de *E. dilatata*. Como era de esperar, en las pruebas de toxicidad aguda, el período de exposición más prolongado y la ausencia de alimentación afectaron significativamente a los organismos a bajas concentraciones. En la prueba de reproducción, la tasa intrínseca se vio ligeramente afectada. Nuestros resultados sugieren que un posible aumento en la densidad del alga *Chlorella vulgaris* (estimulada por la presencia de Li) pudo influir en la tolerancia al tóxico sobre el crecimiento poblacional de *E. dilatata*, permitiéndole al rotífero tolerar concentraciones superiores a la CL₅₀; en cambio, el efecto adverso sobre la tasa de ingestión fue más sensible. Se generaron los primeros datos de carga corporal letal y crónica, los cuales son excelentes parámetros que nos brindan una mejor descripción de la toxicidad intrínseca del Li, ya que es independiente de la concentración y el tiempo de exposición.

Además, nuestros datos de microanálisis de rayos X de energía dispersiva indican descalcificación en la cutícula externa del rotífero y un aumento en el porcentaje de Ca en las antenas del organismo después de una exposición de 24 h a Li. La calcificación encontrada en las antenas es confirmada mediante absorción atómica, por lo tanto, en base a estos resultados y otros autores, nos atrevemos a suponer que el Li entra por el sistema digestivo, se deposita en la lórica (por medio de la sustitución de Li por calcio), también puede depositarse en otros orgánulos como el mástax y vitelario (orgánulos importantes para procesos metabólicos y reproductivos) y finalmente en los protonefridios encargados de la osmorregulación y regulación iónica. Sin embargo, la ruta de movilización y almacenamiento de Li aún no se comprende completamente en *E. dilatata*.

Los resultados de la prueba de toxicidad de laboratorio informados aquí y por otros indican un potencial para que el Li afecte a las comunidades ecológicas acuáticas en algunos casos. En tales casos, en altas concentraciones de litio debe tenerse en cuenta el potencial del Na para mejorar la toxicidad del Li según lo descrito por diferentes autores.

México se encuentra en una importante etapa de exploración de yacimientos con alto potencial de extracción de Li, creemos que la información aquí generada será de gran utilidad para las organizaciones encargadas de la regulación minera, en cuanto a sus descargas de metales en las aguas de relaves. Así mismo, también puede ser de utilidad para las dependencias gubernamentales que se encargan de regular los recursos hídricos en el país. En tales casos, puede justificarse una investigación adicional con especies más sensibles o específicas de la región. Debido a que la eliminación de Li del ambiente acuático es difícil (Kszos y Stewart, 2003), será importante mantener las mejores prácticas de manejo para evitar que el Li disuelto ingrese al ambiente acuático. Esto es cada vez más importante debido al incremento de dispositivos electrónicos que demandan el uso y procesamiento de materiales ricos en Li.



10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AICS, 2007. Australia Inventory of Chemical Substances. /www.nicnas.gov.au/Industry/AICS/ViewChemical.asp?SingleHit=1&Chemical_Id=10984&docVerS.
- Alvarado-Flores J, Rico-Martínez R, Ventura-Juárez J, Silva-Briano M, Rubio-Franchini I. 2012. Bioconcentration and localization of lead in the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas 1677 (Rotifera: Monogononta). *Aquatic Toxicology*. 109: 127-32. DOI:10.1016/j.aquatox.2011.12.007
- Anderson B. G., 1948. The apparent thresholds of toxicity to *Daphnia magna* for chlorides of various metals when added to Lake Erie water. *Trans. Am. Fish. Soc.* 78:96–113
- Anderson, M.A., Bertsch, P.M., Miller, W.P., 1988. The distribution of lithium in selected soils and surface waters of the southeastern USA. *Appl. Geochem.* 3, 205–212.
- Aral, H., Vecchio-Sadus, A., 2008. Toxicity of lithium to humans and the environment a literature review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 70, 349–356.
- Aral, H., Vecchio-Sadus, A. (2011). Lithium: environmental pollution and health effects.
- Arias-Almedia, J.C., Rico-Martínez, R. 2011. Toxicity of cadmium, lead, mercury and methyl parathion on *Euchlanis dilatata* Ehrenberg 1832 (Rotifera: Monogononta). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 87:138-142. DOI 10.1007/s00128-01-0308
- Bernardes, A.M., Espinosa, D.C.R., Tenorio, J.S., 2004. Recycling of batteries: a review of current processes and technologies. *J. Power Sources* 130, 291–298.
- Bleiwas, D., Coffman, J., 1986. Lithium Availability-Market Economy Countries. Bureau of Mines Information Circular. 9102, p. 23.
- Bolan N., Hoang S. A., Mohsin T., Wang L., Bolan S., Sooriyakumar P., Robinson B., Wijesekara H, Wijesooriya M, 2021. From mine to mind and mobiles – Lithium contamination and its risk management, *Revisit Environmental Pollution*, pp. 7-12

Brusca R. C., Brusca G., J. 2003. Invertebrados 2da. Edición Mc Graw Hill Interamericana. Capítulo 12, página 373.

Bury, N.R., Walker, P.A., Glover, C.N., 2003. Nutritive metal uptake in teleost fish. J. Exp., Cornillac A M, Luciani A, Ricci C (1980) An ultrastructural approach to feeding behaviour in *Philodina roseola* and *Brachionus calyciflorus* (Rotifers). 3. Cilia and muscles, conclusions. Hydrobiologia 73: 137–141. <https://doi.org/10.1007/BF00019437>

Cole, G.A., 1994. Textbook of Limnology, Prospect Heights IL: Wavelands Press.

Danielik, V., Fellner, P., 1998. Content of sodium and lithium in aluminium in equilibrium with cryolite melts experimental data and thermodynamic model. Chem. Pap. 52, 195–198.

Davis, J., Desmond, M., Berk, M., 2018. Lithium and nephrotoxicity: a literature review of approaches to clinical management and risk stratification. BMC Nephrol. 19, 1–7.

De Forest, D.K., Brix, K.V., Adams, W.J., 2007. Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: the inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. Aquat. Toxicol. 84, 236–246.

Dessemond, C., Lajoie-Leroux, F., Soucy, G., Laroche, N., Magnan, J.-F., 2019. Spodumene: the lithium market, resources and processes. Minerals 9, 334.

De Maagd PGJ. 1996. Polycyclic aromatic hydrocarbons: fate and effects in the aquatic environment. Ph.D Thesis, Utrecht University: Dutch

Dhams, H.U., Hagiwara, A., Jae-Seong, L., 2011. Ecotoxicology, ecophysiology, and mechanistic studies with rotifers. Aquat. Toxicol. 101, 1–12.

Durfor C. N and Becker, E. 1964. Public water supplies of the 100 largest cities in the United States, 1962, US Geological Survey Water Supply Paper 1812, 364 p.

Environmental Restoration Division Manual: ERD-AG-003. 1998 Groundwater Model Design and Application. Environmental Compliance and Area Completion Projects Regulatory Document Handbook. United States Department of Energy

- Emery, R.D., Klopfer, C. and Skalski, J.R. (1981) The incipient toxicity of lithium to freshwater organisms representing a salmonid habitat. PNL-3640, UC-11 Pacific Northwest Laboratory: Richland, MA, 364 p.
- European Chemicals Agency., 2008 Regulation (EC) No 1272/2008 - classification, labelling and packaging of substances and mixtures (CLP)
- European Commission (1996) Expanded Scheme for Harmonization of Transport and Supply and Use Classification Schemes for Dangers to the Aquatic Environment Proposed by European Commission. Directorate-General XI., Brussels.
- Franzaring, J., Schlosser, S., Damsohn, W., Fangmeier, A., 2016. Regional differences in plant levels and investigations on the phytotoxicity of lithium. *Environ. Pollut.* 216, 858–865.
- Ferrando MD, Andreu E. 1993. Feeding behavior as an index of copper stress in *Daphnia magna* and *Brachionus calyciflorus*. *Comp Biochem Physiol* 106C(2):327–331. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(93\)90141-7](https://doi.org/10.1016/0742-8413(93)90141-7)
- González-Figueroa R., Rico-Martínez R., Santos-Medrano Emilio., Ramírez-López E. 2021. Estudio de la Toxicidad letal y subletal de los metales Co, Cr, Mg y Pb, y sus rutas de entrada y distribución en el rotífero *Euchlanis dilatata*, Tesis de Maestría
- Gourcerol, B., Gloaguen, E., Melleton, J., Tuduri, J., Galiege, X., 2019. Re-assessing the European lithium resource potential—A review of hard-rock resources and metallogeny. *Ore Geol. Rev.* 109, 494–519.
- Greger R. 1990. Possible sites of lithium transport in the nephron. *Kidney Int* 28:S26–S30
- Grünfeld, J.-P., Rossier, B.C., 2009. Lithium nephrotoxicity revisited. *Nat. Rev. Nephrol.* 5, 270.
- Han J, Won EJ, Hwang DS, Rhee JS, Kim IC, Lee JS (2013) Effect of copper exposure on GST activity and on the expression of four GSTs under oxidative stress condition in the monogonont rotifer, *Brachionus koreanus*. *Comp Biochem Physiol C* 158:91–100. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2013.05.006>

- Hao, H., Liu, Z., Zhao, F., Geng, Y., Sarkis, J., 2017. Material flow analysis of lithium in China. *Resour. Pol.* 51, 100–106.
- Hassan, S. H. A., Ginkel, S. W. V., Hussein, M. A. M., Abskaron, R., Oh, S. E. 2016. Toxicity assessment using different bioassays and microbial biosensor. *Environment International.* 92-93: 106-118. DOI: 10.1016/j.envint.2016.03.003
- Hernández-Flores S., Santos-Medrano G. E., Rubio-Franchini I., Rico-Martínez R., 2020. Evaluation of bioconcentration and toxicity of five metals in the freshwater rotifer *Euchlanis dilatate* Ehrenberg, 1832. *Environmental Science and Pollution Research.* 27:14058-1069. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07958-3>
- Hernández-Flores S., Rico-Martínez R., 2006 Study of the Effects of Pb and Hg Toxicity Using a Chronic Toxicity Reproductive 5-Day Test with the Freshwater Rotifer *Lecane quadridentate*. Wiley InterScience. DOI 10.1002/tox.20218
- Hernández-Ruiz E, Alvarado-Flores J, Rubio-Franchini I, Ventura-Juárez J, Rico-Martínez R (2016) Adverse effects and bioconcentration of chromium in two freshwater rotifer species. *Chemosphere* 158:107–115.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.067>
- Hobbs, D. A., Warne, M. St. J. y Markich, S. J. 2005. Evaluation of criteria used to assess the quality of aquatic data. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 1: 174-180. DOI:10.1897/2004-003R.1
- Hoffman, D. J., Rattner, B. A, Burton, A. G. Jr.; Cairns, J. Jr. (Ed). 2003. *Handbook of Ecotoxicology*. Boca Raton, Florida. CRC Press.
- Huh Y, Chan LH, Zhang L, Edmond JM (1998) Lithium and its isotopes in major world rivers: implications for weathering and the oceanic budget. *Geochim Cosmochim Acta* 62:2039–2051.
- Hutchinson, G.E. 1975. *A Treatise on Limnology. Part 2 – Chemistry of Lakes*. New York: Jonh Wiley
- Hyo J. K., Yang J. H., Hyun S. K., Yeo J. K., Wonhee J., Young R. S., 2017. Exploring potential biomarker responses to lithium in *Daphnia magna* from the perspectives of

function and signaling networks. *Mol Cell Toxicol.* 13:83-94 DOI 10.1007/s13273-017-0009-6

Jeon J, Sung Ra J, Lee SH, Lee MJ, Yu SH, Kim SD (2010) Role of food and clay particles in toxicity of copper and diazinon using *Daphnia magna*. *Ecotoxicol Environ Saf* 73:400-6. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.10.011>

Johnson, J., Crookshank, H., Smalley, H., 1980. Lithium toxicity in cattle. *Vet. Hum. Toxicol.* 22, 248–251.

Juchelka CM, Snell TW (1994) Rapid toxicity assessment using rotifer ingestion rate. *Arch Environ Con Tox* 26(4):549–554. <https://doi.org/10.1007/BF00214160>

Kavanagh, L., Keohane, J., Cabellos, G.G., Lloyd, A., Cleary, J., 2018. Induced plant accumulation of lithium. *Geosciences* 8, 56.

Kenneth W., Willem S., 2010. Acute Toxicity and Lethal Body Burden of Endosulfan in Tilapia (*Oreochromis niloticus* (L)). *The Open Environmental Pollution & Toxicology Journal*, 2010, 2, 21-26.

Kesler, S.E., Gruber, P.W., Medina, P.A., Keoleian, G.A., Everson, M.P., Wallington, T.J., 2012. Global lithium resources: relative importance of pegmatite, brine and other deposits. *Ore Geol. Rev.* 48, 55–69.

Kessing, L.V., Gerds, T.A., Knudsen, N.N., Jørgensen, L.F., Kristiansen, S.M., Voutchkova, D., Ernstsén, V., Schullehner, J., Hansen, B., Andersen, P.K., 2017.

Khale, J., Zauke, G.P., 2002. Bioaccumulation of trace metals in the copepod *Calanoides acutus* from the Weddell Sea (Antarctica): comparison of two compartment and hyperbolic toxicokinetic models. *Aquat. Toxicol.* 59, 115–135.

Kim RO, Kim BM, Jeong CB, Nelson DR, Lee JS, Rhee JS (2013) Expression pattern of entire cytochrome P450 genes and response of defensomes in the benzo[a]pyrene-exposed monogonont rotifer *Brachionus koreanus*. *Environ Sci Technol* 47:13804–13812. <https://doi.org/10.1021/es403269v>

- Kluettgen, B.; Kuntz, N.; Ratte, H.T. Combined Effects of 3,4-Dichloroaniline and Food Concentration Onlife-Table Data of Two Related Cladocerans, *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia quadrangula*. *Chemosphere* 1996, 32 (10), 2015–2028.
- Kszos, L.A., Stewart, A.J., 2003. Review of lithium in the aquatic environment: distribution in the United States, toxicity and case example of groundwater contamination. *Ecotoxicology* 12 (5), 439–447.
- Kszos, L.A., Beauchamp, J.J., Stewart, A.J., 2003. Toxicity of lithium to three freshwater organisms and the antagonistic effect of Sodium. *Ecotoxicology* 12 (5), 427–437
- Kjølholt, J., Stuer-Lauridsen, F., Skibsted Mogensen, A., Havelund, S., 2003. The Elements in the Second Rank-Lithium. Miljoministeriet, Copenhagen, Denmark.
- Léonard A, Hantson P, Gerber GB (1995) Mutagenicidad, carcinogenicidad y teratogenicidad de los compuestos de litio. *Mutat Res / Rev Genet Toxicol* 339 (3): 131-137.
- Li, L., Ge, J., Chen, R., Wu, F., Chen, S., Zhang, X., 2010. Environmental friendly leaching reagent for cobalt and lithium recovery from spent lithium-ion batteries. *Waste Manag.* 30, 2615–2621.
- Long, K E., Brown, R. P. Jr and Woodburn, K. B. 1998. Lithium chloride: a flow-through embryo-larval toxicity test with the fathead minnow, *Pimephales promelas* Rafinesque. *Bull. Enviromen. Contam. Toxicol* 60, 312-17
- Martínez-Jerónimo, F., Rodríguez-Estrada, Jesús., Martínez-Jerónimo, Laura. 2008. *Daphia exilis* Herrick, 1895 (Crustacea: Cladocera). Una especie zooplactónica potencialmente utilizable como organismo de prueba en bioensayos de toxicidad aguda en ambientes tropicales y subtropicales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 24:153-159.
- McCarty L (1986) The relationship between aquatic toxicity QSARs and bioconcentration for some organic chemicals. *Environ Toxicol Chem* 5:1071–1080. <https://doi.org/10.1002/etc.5620051207>
- Merian, E., Clarkson, T.W., 1991. *Metals and Their Compounds in the Environment*. Vch.

- Millot, R., Vigier, N., Gaillardet, J., 2010. Behaviour of lithium and its isotopes during weathering in the Mackenzie Basin, Canada. *Geochem. Cosmochim. Acta* 74, 3897–3912.
- Newman, M.C (2015). *Fundamentals of Ecotoxicology, The science of pollution*. Taylor & Francis Group. 4th edition. E.UA. 633 pp.
- Nichols, H. W 1973. Growth media-freshwater. In: Stein J. R. (ed). *Handbook of psychological methods*. Cambridge University Press, Cambridge, MA, pp 460.
- Nogrady, T., Wallace, R. L., Snell, T. W. 1993. *Rotifera I: Biology, Ecology and Systematics*. In guides to the identification of microinvertebrates of the continental waters of the world 4. SPB Academic publishing. The Hague, The Netherlands. 142 pp.
- Ohgami, H., Terao, T., Shiotsuki, I., Ishii, N., Iwata, N., 2009. Lithium levels in drinking water and risk of suicide. *Br. J. Psychiatr.* 194, 464–465.
- Palmér, M., Bergstrom, R., Akerstrom, G., Adami, H.-O., Jakobsson, S., Ljunghall, S., 1987. Survival and renal function in untreated hypercalcaemia: population-based cohort study with 14 years of follow-up. *Lancet* 329, 59–62
- Plewka Michael, 2019. Rotifer fauna of Germany and Neighbouring Countries: *Euchlanis dilatate* Ehrenberg 1832; Euchlanidae, Ploima, Monogononta, Rotifera, Syndermata, Gnathifera, Spiralia, Protostomia, Bilateria, Metazoa, Opisthokonta, Eukaryota (plingfactory.de)
- Peiró, L.T., Méndez, G.V., Ayres, R.U., 2013. Lithium: sources, production, uses, and recovery outlook. *JOM (J. Occup. Med.)* 65, 986–996.
- Perez-Legaspi, I.A., Rico-Martínez, R., 2001. Acute toxicity tests on three species of the genus *Lecane* (Rotifera: Monogononta). *Hydrobiologia* 446/447, 375e381. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1017531712808>.
- Phiel, C.J., Klein, P.S., 2001. Molecular targets of lithium action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 41, 789–813.

- Qin, S., Zhao, C., Li, Y., Zhang, Y., 2015. Review of coal as a promising source of lithium. Int. J. Oil Gas Coal Technol. 9, 215–229.
- Rand, G. M. (Ed). 1995. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Effects, Environmental Fate and risk assessment. Florida, USA. CRC Press.
- Rico-Martínez, R; Martínez-Jerónimo, F. (2000). Toxicología ambiental. Capítulo 7, Ecotoxicología acuática. Universidad Autónoma de Aguascalientes. 145-171
- Rico-Martínez R, Snell TW, Shearer TL. 2013 Synergistic toxicity of Macondo crude oil and dispersant Corexit 9500A® to the *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera). Environ Pollut 173:5–10. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.09.024>
- Rico-Martínez, R., Santos-Medrano, G. E. 2015. Acute and Chronic effects of five metals in a battery of freshwater planktonic organisms. Fresenius Environmental Bulletin 24(12b): 4658-4666.
- Robinson, B.H., Yalamanchali, R., Reiser, R., Dickinson, N.M., 2018. Lithium as an emerging environmental contaminant: mobility in the soil-plant system. Chemosphere 197, 1–6.
- Rubio-Franchini, I., Rico-Martínez, R., 2011. Evidence of lead biomagnification in invertebrate predators from laboratory and field experiments. Environ. Pollut. 159 (7), 1831e1835. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2011.03.021>.
- Rubio-Franchini, I., Rico-Martínez, R., 2008. Determination of lead in samples of zooplankton, water, and sediments in a Mexican reservoir: evidence for lead biomagnification?. Environ Toxicol, 23:459-465.
- Sapse A.M., Schleyer P.R., 1995. Lithium chemistry: a theoretical and experimental overview. Wiley, New York
- Sarma, S. S. S., S. Nandini, Gama-Flores, J. L., Fernandez-Araiza M. A. 2006. Population growth of *Euchlanis dilatata* (rotifera): combined effects of methyl parathion and food (*Chlorella vulgaris*).

- Segers, H., 2008. Global diversity of rotifers (Rotifera) in freshwater. *Hydrobiologia* 595, 49–59.
- Secretaría de Economía, 2021. Perfil de Mercado de Litio. Recuperado de: [Perfil_Litio_2018__T_.pdf](#) (www.gob.mx)
- Schrauzer, G.N., 2002. Lithium: occurrence, dietary intakes, nutritional essentiality. *J. Am. Coll. Nutr.* 21, 14–21.
- Schrauzer, G.N., 2002. Lithium: occurrence, dietary intakes, nutritional essentiality. *J. Am. Coll. Nutr.* 21, 14–21.
- Shahzad B., Mudassar N. M., Mohsin T., Dorin G., Ghazanfar A., 2016. Is lithium biologically an important or toxic element to living organisms? An overview. *Environ Sci Pollut Res/Rev Environ Sci Pollut Res* 3-4
- Shen, J., Li, X., Shi, X., Wang, W., Zhou, H., Wu, J., Wang, X., Li, J., 2020. The toxicity of lithium to human cardiomyocytes. *Environ. Sci. Eur.* 32, 1–12.
- Shetlar, R.E. and Towle, D.w. 1989. Electrogenic sodium-proton exchange in membrane vesicles from crab *Carcinus maenas* gill. *Am. J. Physiol.* 257, R924-31
- Sierra, R. C. A. 2011. Calidad del agua: evaluación y diagnóstico. Bogotá, CO: Ediciones de la U. Retrieved from <http://www.ebrary.com>
- Sievers, M.L and Cannon, H.L. 1975. Disease patterns of Prima Indians of the Gila River Indian Reservation of Arizona in relation to the geochemical environment. In D. D. Hemphill (ed), trace Substances in Enviromental Health-VII, pp. 57-61. Missouti: University of Missouri Press.
- Smithberg, M., Dixit, P.K., 1982. Teratogenic effects of lithium in mice. *Teratology* 26, 239–246.
- Snell, T. W., Janssen, C. R., 1997. Microscale toxicity testing with rotifers. In: *Microscale aquatic toxicology. Advances, Techniques and practice* (eds. P.G. Wells, K. Lee and C. Blaise), pp. 409-422. CRC Lewis Publishers, Florida.
- Snell, T. W., 1998. Chemical ecology of rotifers. *Hidrobiologia*, 387/388: 267-276

- Speirs, J., Contestabile, M., Houari, Y., Gross, R., 2014. The future of lithium availability for electric vehicle batteries. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 35, 183–193.
- Ștefan D. S., Neacșu N., Ștefan M., Sandulovici R., Șerbănescu C., 2019. Distribution of metals in water, sediments, aquatic plants and fish from snagov lake, Romania. *Environmental Engineering and Management Journal*. Vol. 18, No. 6, 1207-1218.
- Sun, H.J. et al. Characterization of Atmospheric H₂-Plasma-Treated LiNi_{1/3}Co_{1/3}Mn_{1/3}O₂ as Cathode Materials in Lithium Rechargeable Batteries. *Trans. of the Korean Hydrogen and New Energy Society* 24:160- 171 (2013).
- Szalat, A., Mazeh, H., Freund, H.R., 2009. Lithium-associated hyperparathyroidism: report of four cases and review of the literature. *Eur. J. Endocrinol.* 160, 317.
- Tanner, D.Q., 1995. Surface-water-quality Assessment of the Lower Kansas River Basin, Kansas and Nebraska: Distribution of Trace-Element Concentrations in Dissolved and Suspended Phases, Streambed Sediment, and Fish Samples, May 1987 Through April 1990. US Department of the Interior, US Geological Survey.
- Tanveer, M., Hasanuzzaman, M., Wang, L., 2019. Lithium in environment and potential targets to reduce lithium toxicity in plants. *J. Plant Growth Regul.* 38, 1574–1586.
- Tkatcheva, V., Hyvarinen, H., Kukkonen, J., Ryzhkov, L.P., Holopainen, I.J., 2004. Toxic effects of mining effluents on fish gills in a subarctic lake system in NW Russia. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 57, 278–289
- Tkatcheva, V., Franklin, N.M., McClelland, G.B., Smith, R.W., Holopainen, I.J., Wood, C. M., 2007a. Physiological and biochemical effects of lithium in rainbow trout. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 53, 632–638.
- Torreblanca, A., Díaz-Mayans, J., Del Ramo, J., 1993. Acumulación de metales. In: Mas, A., Azcue, J.M. (Eds.), *Metales en sistemas biológicos. Promociones y Publicaciones Universitarias, S.A., Barcelona.*
- Török A. I, Moldovan A., Levei E. A., Oana C., Claudiu T. and Moldovan O.T., 2021. Assessment of Lithium, Macro- and Microelements in Water, Soil and Plant Samples from Karst Areas in Romania. *MDPI*

- USEPA, 2004. In: Technology, O.o.S.a. (Ed.), The Incidence and Severity of Sediment Contamination in Surface Waters of the United States.
- USEPA, 2022. TSCA Chemical Substance Inventory.
- USGS, 2017. Mineral commodity summaries 2017: U.S. Geological survey. In: U.S.D.o.t. Interior, p. 202. Reston, Virginia.
- Verschoor AM, Boonstra H, Meijer T. 2005. Application of stable isotope tracers to studies of zooplankton feeding, using the rotifer *Brachionus calyciflorus* as an example. Dev Hydrobiol 181:535– 549. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-4296-x>
- Viana, T., Ferreira, N., Henriques, B., Leite, C., De Marchi, L., Amaral, J., Freitas, R., Pereira, E., 2020. How safe are the new green energy resources for marine wildlife? The case of lithium. Environ. Pollut. 267, 115458.
- Waykar B, Shinde SM (2011) Assessment of the heavy metal bioaccumulation in three species of fresh water bivalves. Bull Environ
- Wallace, R. L. 2002. Rotifers: exquisite metazoans. Integrative and Comparative Biology. 42: 660-667. DOI: 10.1093/icb/42.3.660
- Weiner ML (1991) Overview of lithium toxicology. In: Schrauzer GN, Klippel KF (eds) Lithium in biology and medicine. Weinheim, VCH Verlag, pp. 83–99
- Wetzel, R.G. (1983). Limnology, 2nd edn. Philadelphia, PA: Saunders College Publishing
- Winslow, K.M., Laux, S.J., Townsend, T.G., 2018. A review on the growing concern and potential management strategies of waste lithium-ion batteries. Resour. Conserv. Recycl. 129, 263–277.
- Wood, C.M., 2001. Toxic responses of the gill. Targ. Organ Toxic. Mar. Freshwater Tele. 1, 1–89.
- Won, E., Kim, Y.-K., 2017. An oldie but goodie: lithium in the treatment of bipolar disorder through neuroprotective and neurotrophic mechanisms. Int. J. Mol. Sci. 18, 2679.
- Wright, D. A. y Welbourn, P. 2002. Environmental Toxicology. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Yaksic, A., Tilton, J.E., 2009. Using the cumulative availability curve to assess the threat of mineral depletion: the case of lithium. *Resour. Pol.* 34, 185–194.

Yalamanchali, R., 2012. Lithium, an Emerging Environmental Contaminant, Is Mobile in the Soil-Plant System. Lincoln University.

Yu, Ming-Ho. 2005. *Environmental Toxicology, Biological and Health* CRC Press.

Zaldivar R (1989) High lithium concentrations in drinking water and plasma of exposed subjects. *Arch Toxicol* 46:319–320

