Evaluación de la Sensibilidad de Diferentes Especies Acuáticas, Presentes en la Cuenca Matanza Riachuelo, Expuestas a Diversos Contaminantes Determinados en la misma

Monitoreo de peces

Universidad Nacional de La Plata

Cuarto Informe de Avance

Trimestre IV

Junio-Septiembre de 2012

Contenido

1. PRESENTACIÓN 3
2. ESTACIONES DE MUESTREO 4
Estación 1 4
Estación 2 5
Estación 4 6
Estación 5 7
Estación 32 8
Estación 33 9
Estación 37 10
Estación 38 11
3. ESTACIONES ANEXAS 12
Estación 41 13
Estación 42 14
Estación 43 15
Estación 44 16
Estación 45 17
Estación 49 18
Estación 50 19
Estación 51 20
Estación 53 21
Estación 54 22
Estación 55 23
Estación 56 24
Estación 58 25
Estación 62 26
Estación 68 27
4. CONCLUSIONES 28
5. BIOENSAYOS 30
5.1. ENSAYOS DE TOXICIDAD CON EXPOSICIÓN AGUDA SOBRE OSTRÁCODOS 30
5.1.1. Introducción 30
5.1.2. Principio de los ensayos agudos con ostrácodos 30
5.1.3. Procedimiento de ensayo 30
5.1.4. Condiciones del ensayo 30
5.1.5. Procesamiento de datos y expresión de resultados 31
5.1.6. Resultados 32
5.2. ENSAYOS DE TOXICIDAD .EXPOSICIÓN AGUDA SOBRE SEMILLAS DE LECHUGA 32
5.2.1. Introducción 32
5.2.2. Principio de los ensayos agudos con semillas de *Lactuca sativa* 32
5.2.3. Procedimiento de ensayo 33
5.2.4. Condiciones del ensayo 33
5.2.5. Procesamiento de los datos y expresión de los resultados 33
5.2.6. Resultados 35
5.3. Conclusiones 35

1. PRESENTACIÓN

La ejecución del proyecto para la evaluación de la sensibilidad de especies de animales y vegetales acuáticos, característicos de la Cuenca Matanza Riachuelo, expuestos a diferentes contaminantes, pretende lograr una caracterización ambiental mediante el monitoreo de biota, agua y sedimentos de fondo de cauce en la cuenca de los ríos Matanza - Riachuelo.

El presente documento corresponde al cuarto informe de avance sobre el monitoreo ambiental de la cuenca, efectuado durante el cuarto trimestre del año 2012, en el período comprendido del 25 de Agosto al 10 de Septiembre de 2012. En dicho lapso, se procedió con la ejecución de la campaña de muestreo, la cual estuvo a cargo del Licenciado Gustavo Bulus y el Licenciado Federico Argemi de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y participó también el Licenciado Eugenio Coconier por parte de la ACUMAR.

Las operaciones de muestreo fueron llevadas a cabo por un equipo técnico de la UNLP, siendo los responsables de colectar muestras de peces empleando, metodologías estandarizadas para tal fin y de acuerdo con lo que indican las reglas del arte.

La selección de los puntos estación (PE) para la toma de muestras atiende a criterios desarrollados por la autoridad de cuenca, y pretenden ser representativos para manifestar la alteración de calidad del agua superficial con énfasis en las consecuencias de la actividad antrópica desarrollada en la cuenca.

Los resultados obtenidos brindan la información actualizada necesaria para caracterizar la calidad de agua del río y, conjuntamente, evaluar la calidad de los sedimentos de su lecho.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

2. ESTACIONES DE MUESTREO

Estación 1

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
1	MatyRut3	Puente Ruta Nacional N° 3 (Km 52,5)	Río Matanza-Riachuelo	34°55'21.36"S	58°43'17.04"O	Marcos Paz

Peces: No se lograron capturar ejemplares en el cauce principal. No obstante ello se capturaron ejemplares de *Cnesterodon sp*. en lagunas que se formaron debido al alto caudal producido por las lluvias sobre la planicie de inundación. La longitud media de los organismos capturados fue de 12,5 mm.

Imagen 1.1. Río Aguas abajo, con baja profundidad, alta velocidad de corriente.

Imagen 1.2. Lagunas producidas por el desborde del cauce principal, presencia de Cnesterodon sp..

Estación 2

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
2	Mplanes	Río Matanza, cruce con calle Planes	Río Matanza-Riachuelo	34°53'35.16"S	58°39'13.68"O	Límite entre Cañuelas y La Matanza

Peces: No se capturaron ejemplares.

Imagen 2.1. Características de la región de estudio.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 4

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
4	ArroChac	Arroyo Chacón, cruce con calle Planes	Arroyo Chacón	34°52'54.48"S	58°40'4.08"O	La Matanza

Peces: Abundante presencia de *Cnesterodon sp* los cuales presentaron una talla media de 17,4 mm de longitud estándar promedio.

Imagen 4.1. Características de la región de estudio, presencia de vegetación con abundante cantidad de peces.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 5

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
5	Mherrera	Río Matanza, cruce con calle Máximo Herrera	Río Matanza-Riachuelo	34°51'49.68"S	58°38'22.92"O	Límite entre Ezeiza y La Matanza

Peces: No se registraron capturas, tampoco se observó la presencia de peces en el sitio de muestreo.

Imagen 5.1. Sitio de muestreo.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 32

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
32	ArroCanu1	Arroyo La Montañeta (subcuenca Ao. Chacón). Dentro de Estancia	Arroyo Cañuelas	35° 1'23.52"S	58°40'43.32"O	Cañuelas

Peces: Se capturo una especie: *Corydoras sp.* con un lst media de 43,8mm.

Imagen 32.1 Zona de muestreo.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 33

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
33	ArroCanu2	Arroyo Cañuelas, puente Ruta Nacional Nº 205	Arroyo Cañuelas	34°55'31.44"S	58°36'37.44"O	Cañuelas

Peces: Solo se capturo una especie.

Especie	**LSt media en mm.**
Cnesterodon sp.	16,75

Imagen 33.1. Sitio de muestreo.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 37

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
37	ArroMora1	Puente sobre calle de acceso al penal de Marcos Paz	Arroyo Morales	34°50'19.32"S	58°49'59.52"O	General Las Heras

Peces: No se registraron capturas.

Imagen 37.1. Sitio de muestro de peces.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 38

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
38	ArroRod	Arroyo Rodríguez, aguas abajo de la confluencia con el Arroyo Los Pozos	Arroyo Rodríguez	34°59'9.24"S	58°53'3.12"O	General Las Heras

Peces: No se capturaron ejemplares.

Imagen 38.1. Sitio de muestreo con gran profundidad y velocidad media de corriente.

3. ESTACIONES ANEXAS

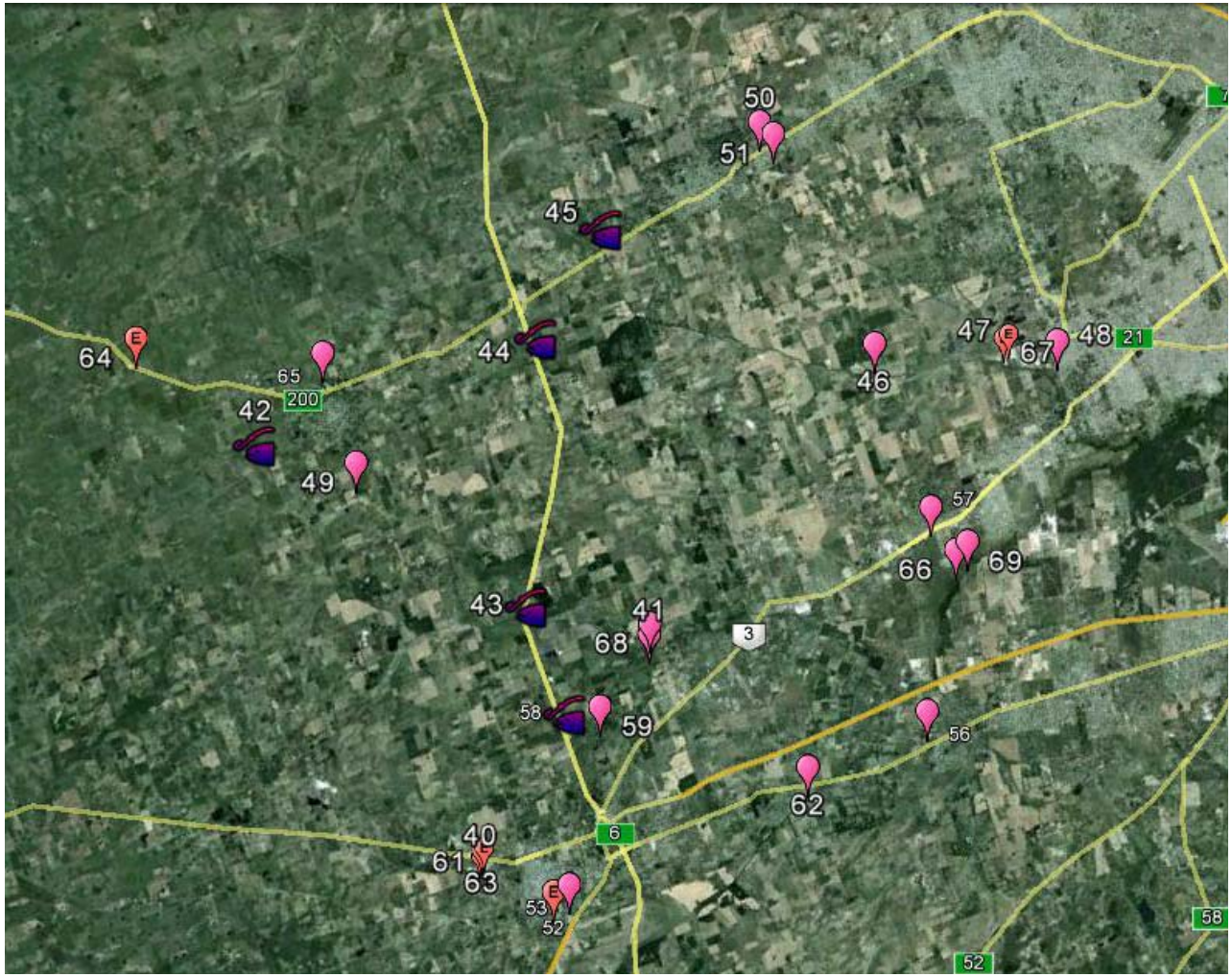


Figura 1: Ubicación geográfica de los puntos de muestreo, donde se llevó a cabo el esfuerzo de captura de peces (iconograma violeta y símbolo de pesca).

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 41

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
41	ArroCeb6	Aº Cebey. Aguas arriba de la confluencia con el río Matanza	Aº Cebey	34°57'31.78"S	58°45'31.67"O	Cañuelas

Peces: No se capturaron especies de peces.

Imagen 41.1. Sitio de muestreo.

Estación 42

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
42	TribRod	Tributario del A° Rodríguez Aguas abajo de Zona Industrial	Tributario del A° Rodríguez	-34.958994°S	-58.968753°O	Las Heras

Peces: Se capturaron ejemplares de 1 especie, *Cnesterodon sp.* con una Lst media de 13,2 mm.

.

Imagen 42.1. Sitio de muestreo con captura de una sola especie.

Estación 43

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
43	ArroRodRuta6	Aº Rodríguez y Ruta 6	Aº Rodríguez	34°58'5.81"S	58°49'6.11"O	Las Heras

Peces: Se capturaron ejemplares de 2 especies, las cuales se informan en la siguiente tabla:

Especie	**LSt media en mm**
Corydoras sp.	47,3
Cnesterodon sp.	13,1

Imagen 43.1. Sitio de muestreo. Se observa sobre el alambrado la presencia de pastos marcando el alto caudal registrado por las fuertes lluvias.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 44

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
44	ArroMora2	A° Morales y Ruta 6	A° Morales	34°52'22.48"S	58°52'14.42"O	Las Heras

Peces: Se capturaron ejemplares de 1 especie, la cual se informa en la siguiente tabla:

Especie	**Lst media en mm**
Cnesterodon sp.	16,14

Imagen 44.1. Sitio de muestreo.

Estación 45

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
45	ArroPaj	A° La Paja y Ruta 200	A° La Paja	34°49'24.09"S	58°51'57.19"O	Marcos Paz

Peces: Se capturaron ejemplares de una sola especie: *Cnesterodon sp*.

Especie	**Lst media en mm**
Cnesterodon sp.	16,15

Imagen 45.1. Sitio de muestreo, con presencia de abundante vegetación.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 49

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
49	TribRod1	Tributario del A° Rodríguez Aguas abajo de PDLC General las Heras	Tributario del A° Rodríguez	34°56'59.30"S	58°55'13.77"O	Las Heras

Peces: No se capturaron ejemplares de peces.

Imagen 49.1. Sitio de muestreo canalizado artificialmente.

Estación 50

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
50	ArroPanta1	A° Pantanoso Aguas arriba de la PDLC	A° Pantanoso	34°45'38.17"S	58°49'10.64"O	Marcos Paz

Peces: No se capturaron ejemplares de peces.

Imagen 50.1. Sitio de muestreo en ubicación urbana.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 51

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
51	ArroPanta2	A° Pantanoso Aguas abajo de la PDLC	A° Pantanoso	34°45'44.76"S	58°48'40.47"O	Marcos Paz

Observaciones: No fue posible acceder al punto de muestreo.

Imagen 51.1 Corresponde a la campaña anterior.

CIMA
Universidad Nacional de La Plata.
Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas.
Calle 47 esq. 115 - 1900-La Plata. Tel/fax: (0221) 422-9329

Estación 53

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
53	ArroCanuPel	A° La Montañeta y calle Pellegrini (aguas abajo de industria Frigorífico Cañuelas SRL)	A° La Montañeta	35° 3'37.43"S	58°44'24.30"O	Cañuelas

Peces: No se capturaron ejemplares de peces.

Imagen 53.1. Sitio de muestreo suburbano.

Estación 54

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
54	ArroCanuRuta6	A° La Montañeta y Ruta 6	A° La Montañeta	35° 2'34.24"S	58°42'45.38"O	Cañuelas

Peces: No se capturaron ejemplares de peces.

Imagen 54.1. Sitio de muestreo rural.

Estación 55

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
55	ArroCanu205	A° Cañuelas y Ruta 205	A° Cañuelas	34°58'4.48"S	58°39'24.74"O	Cañuelas

Peces: Se capturaron ejemplares de 2 especies, las cuales se informan en la siguiente tabla:

Especie	**LSt media en mm**
Cnesterodon sp.	14,7
Corydora sp.	42,75

Imagen 55.1. Sitio de muestreo con cauce amplio y muy bajo caudal.

Estación 56

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
56	ArroCanuSuiza	A° Cañuelas y calle Suiza (aguas abajo de Frigoríficos Coop de trabajo obrera Máximo Paz y Coop de trabajo Frigo Carne)	A° Cañuelas	34°56'14.45"S	58°37'24.95"O	Cañuelas

Peces: No se capturaron ejemplares.

Imagen 56.1. Sitio de muestreo, se observa un desborde importante del margen natural debido a las abundantes precipitaciones.

Estación 58

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
58	ArroCast	A° De Castro. Aguas arriba la confluencia con el A° Cebey	A° De Castro	34°59'56.98"S	58°46'45.05"O	Cañuelas

Peces: Se capturaron ejemplares de una sola especie, la cual se informan en la siguiente tabla:

Especie	**LSt media en mm**
Cnesterodon sp.	13,23

Imagen 58.1. Sitio de muestreo con gran profundidad y velocidad media de corriente.

Estación 62

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
62	ArroCanuHipico	A° Cañuelas y Acceso al Club Hípico	A° Cañuelas	34°58'39.63"S	58°39'46.19"O	Cañuelas

Peces: Se capturaron ejemplares de 3 especies, las cuales se informan en la siguiente tabla:

Especie	**LSt media en mm**
Parapimelodus sp.	46
Cnesterodon sp.	16,75
Jenynsia sp.	26

Imagen 62.1. Sitio de muestreo con gran profundidad y velocidad media de corriente.

Estación 68

Estación	Código	Ubicación	Nombre del curso	Latitud	Longitud	Partido
68	ArroRod2	A° Rodríguez. Aguas arriba de la confluencia con el río Matanza	A° Rodríguez	34°57'18.16"S	58°45'38.58"O	Marcos Paz

Observaciones: No fue posible acceder al punto de muestreo.

Imagen 68.1. Corresponde a la campaña anterior.

4. CONCLUSIONES

En la siguiente tabla se representan los puntos estación en los que se capturaron peces durante los muestreos correspondientes a los trimestres segundo, tercero y cuarto. La presencia de individuos durante uno u otro muestreo puede deberse a distintos factores, entre ellos, el alto dinamismo de las especies capturadas, el caudal variable debido a las precipitaciones, etc.

	Presencia de Peces Trimestre		
	II	III	IV
1		■	■
2		■	
3		■	
4	■	■	■
5			
6	■		
7	■		
8	■		
10	■		
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			
32	■		■
33		■	■
34			
35			

	Presencia de Peces Trimestre		
	II	III	IV
36	■		
37	■		
38		■	
39			
40			
41			
42		■	■
43		■	■
44		■	■
45		■	■
46			
47			
48			
49			
50			
51			
52			
53			
54			
55		■	■
56		■	
57			
58		■	■
59			
60			
61			
62		■	
63			
64			
65			
66			
67			
68			
69			
70			

<u>Nota</u>: Las celdas sombreadas indican las estaciones donde se registraron capturas de peces durante el trimestre. Las celdas en blanco indican estaciones donde no se registraron capturas de peces.

En parte esta gran variabilidad en las capturas efectuadas puede modificarse incrementando el esfuerzo de muestreo y/o modificando las artes de pesca.

Es de destacar que el muestreo correspondiente al cuarto trimestre se realizó durante un período de abundantes precipitaciones que aumentaron significativamente el caudal de los arroyos muestreados. La estación meteorológica de Ciudad Universitaria, dependiente de la Universidad de Buenos Aires, registró para el mes de agosto de 2012 una precipitación de 228 mm, este valor solo es superado por el máximo histórico correspondiente al mismo mes del año 1922.

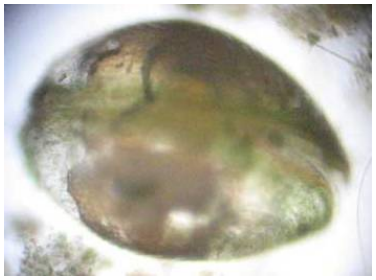
Esta condición climática, probablemente fue la responsable de la disminución en la diversidad y tamaño de las especies de peces encontradas, dado que el incremento de caudal no solo reduce las probabilidades de captura en el curso de agua, sino que, también arrastra y disemina por la planicie de inundación muchos de los ejemplares. Esos peces pueden o no regresar al cauce principal cuando las condiciones retornan a la normalidad.

Sin embargo, vale señalar que pese a las condiciones climáticas reinantes durante agosto de 2012, se observó que los sitios en los cuales no se han encontrado peces se mantienen sin capturas, lo que sugiere que las barreras que impiden su colonización aún persisten.

5. BIOENSAYOS

5.1. ENSAYOS DE TOXICIDAD CON EXPOSICIÓN AGUDA SOBRE OSTRÁCODOS

5.1.1. Introducción



Durante el cuarto trimestre del año 2012 se realizaron baterías de ensayos de toxicidad de exposición aguda a metales pesados. Estos se practicaron sobre una especie de ostrácodo (*Cypridopsis vidua*).

5.1.2. Principio de los ensayos agudos con ostrácodos

El ensayo consiste en la exposición de individuos adultos de la especie de ostrácodo seleccionada frente a distintas concentraciones del tóxico analizado.

Luego de un tiempo de exposición de 96 horas se contabiliza el número total de individuos inmóviles / muertos / disgregados.

5.1.3. Procedimiento de ensayo

Los bioensayos se realizaron en dos etapas, la primera consistió en un ensayo preliminar, con el cual se acotó el intervalo de diluciones sobre el cual era esperable una inmovilidad parcial de los organismos expuestos.

A continuación, como segunda etapa, se realizó el ensayo definitivo, cuyos resultados se informan en el presente documento.

Tanto el ensayo preliminar como el definitivo, se implementaron preparando una serie de diluciones de concentración decreciente a partir de una solución madre, utilizando para ello agua dulce de red, declorinada, con una dureza igual a 178 mg $CaCO_3$/l.

5.1.4. Condiciones del ensayo

Se ensayaron las diluciones de la solución madre de cada tóxico en las condiciones detalladas en las Tabla 1 y Tabla 2.

Tabla 1: Tipo de ensayo

Parámetro	**Condición**
Grupo estudiado	Ostrácodos
Tipo de recipiente	Plástico
Agua de dilución	Agua de red declorinada dureza 178 mg $CaCO_3$/l
Medio de cultivo	Agua de red declorinada dureza 178 mg $CaCO_3$/l
Volumen de la solución de prueba	500 ml
Número de réplicas	3
Duración del ensayo	96 horas
Tipo de ensayo	Estático con renovación de medio
Método de Evaluación	Conteo directo de organismos muertos

Aceptabilidad de los resultados	Blanco con mortalidad inferior a 10%

Tabla 2: Condiciones de ensayo

Parámetro	**Condición**
pH	7,8 ± 0,2
Temperatura	20 ± 2 ºC
Alimentación	Sin alimentación
Calidad de luz	Fluorescente, Blanco-frío
Intensidad luminosa	600-1000 lux
Fotoperíodo	16:8 (luz:oscuridad)
Resultado final	CE_{50}/CL_{50} (Concentrac. Efectiva 50 / Concentrac. Letal 50)

5.1.5. Procesamiento de datos y expresión de resultados

Luego de finalizado el período de exposición del bioensayo, se procede a calcular la proporción de mortalidad para cada dilución, en base al número total de organismos inmóviles / muertos / disgregados, versus el número de individuos expuestos al tóxico. Analizando la curva concentración-respuesta se cuantifica la relación entre la proporción de individuos muertos y la concentración del tóxico. Este procedimiento se efectúa mediante el cálculo de una regresión lineal.

A fin de realizar las estimaciones correspondientes a los parámetros de la recta y, en virtud de la relación curvilínea de las variables en juego, se procede previo al análisis de la mismas, a su transformación aplicando logaritmos en base 10 sobre el porcentaje de dilución, y unidades probabilísticas normales (unidades Probit) a la proporción de organismos inmóviles. La última transformación se efectúa utilizando una tabla de probabilidades de la distribución Normal, en la que se busca el valor correspondiente a la proporción de mortalidad, como si fuese una probabilidad. Una vez encontrado el valor, se transforma reemplazando el mismo por el correspondiente valor de Z (variable normal estandarizada), al cual se le suman 5 unidades, a fin de evitar la ocurrencia de valores negativos.

Las variables así transformadas, a fin de estimar los parámetros de la recta, son entonces analizadas utilizando programas generales de cálculo estadístico (tipo Excel) o específicos para este tipo de análisis, como el PROBIT de la USEPA. Una vez realizado este procedimiento, se utiliza la ecuación de la recta para estimar las concentraciones que causan distintas proporciones de efecto, asignando valores a la variable dependiente, y obteniendo valores del logaritmo de la concentración, que luego se convierten a sus unidades originales.

La más común de estas concentraciones se conoce como concentración efectiva 50 (CE_{50}) y se refiere a la concentración a la cual se ven afectados el 50% de los organismos expuestos. Esta concentración se obtiene asignando el valor 5 a la variable dependiente en la ecuación de la recta, este valor corresponde a un efecto en el 50% de los organismos expuestos. Obteniendo así el valor del logaritmo de la concentración, sobre el cual se calcula su antilogaritmo.

De manera semejante la concentración efectiva 10 (CE_{10}) se refiere a la concentración que afecta el 10% de los organismos expuestos. Si el efecto evaluado es la mortalidad se habla de concentración letal 50 (CL_{50}).

Una vez estimada la CL_{50} u otro punto final, se calculan los correspondientes límites de confianza de la estimación puntual, para el 95% de confianza (95 de cada 100 veces que se efectúe esta medición el verdadero valor caerá dentro del intervalo). Este procedimiento estadístico se realiza por estimación inversa, es decir, se calcula los límites de confianza de la manera clásica para la estimación del 50% de efecto, y luego utilizando la recta estimada se calcula los logaritmos de las concentraciones asociadas a esos efectos. Finalmente se calcula sus antilogaritmos para obtener los límites de confianza finales.

5.1.6. Resultados

A continuación se presentan los resultados obtenidos para la especie y compuestos ensayados.

Tabla 3: Concentración letal 50 (CL_{50}) expresada el mg/l del metal obtenida para cada compuesto ensayado con *Cypridopsis vidua*

Metal	CL_{50}	Límite inferior 95%	Límite superior 95%	Unidades	Método de estimación
Cadmio	0,579	0,494	0,675	mg/l	Probit
Cobre	0,861	0,634	1,071	mg/l	Probit
Cromo	30,984	24,653	36,609	mg/l	Probit
Mercurio	0,441	0,381	0,509	mg/l	Probit
Níquel	8,597	6,294	12,169	mg/l	Probit
Zinc	1,96	1,266	2,646	mg/l	Probit

5.2. ENSAYOS DE TOXICIDAD CON EXPOSICIÓN AGUDA SOBRE SEMILLAS DE LECHUGA

5.2.1. Introducción

Durante el cuarto trimestre del año 2012 se realizaron baterías de ensayos de toxicidad de exposición aguda a metales pesados, estos se practicaron sobre semillas de una especie de lechuga (*Lactuca sativa*).

5.2.2. Principio de los ensayos agudos con semillas de *Lactuca sativa*

El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) es una prueba estática de toxicidad aguda. Esto significa que se realiza sin renovación de la muestra o dilución ensayada durante los 5 días de exposición y la exposición de los vegetales involucra solo una pequeña fracción de su ciclo de vida.

En este bioensayo se puede evaluar efectos fitotóxicos de los compuestos puros o de muestras ambientales, durante el proceso de germinación de las semillas y en el

desarrollo de las plántulas en los primeros días de crecimiento. Las variables utilizadas en la evaluación de los efectos fitotóxicos son la inhibición en la germinación y la inhibición en la elongación de la radícula.

5.2.3. Procedimiento de ensayo

Los ensayos se realizan en dos etapas, la primera consiste en un ensayo preliminar en el cual se acota el intervalo de diluciones donde es esperable una inmovilidad parcial de los organismos expuestos. A continuación, como segunda etapa, se realiza el ensayo definitivo que es que se informa en el presente documento.

Tanto el ensayo preliminar como el definitivo, se implementan preparando una serie de diluciones de concentración decreciente a partir de la solución madre de tóxico, utilizando como agua para la dilución agua destilada.

5.2.4. Condiciones del ensayo

Se ensayaron distintas diluciones de la solución madre en las condiciones detalladas en la Tabla 4.

Tabla 4: Tipo de ensayo y condiciones

Parámetro	Condición
Especie	*Lactuca sativa L*
Tipo de recipiente	Cajas de Petri
Volumen de la solución de prueba	4 ml
Agua de dilución	Agua destilada
Número de réplicas	3
Número de semillas por réplica	20
Tipo de ensayo	Estático sin renovación de medio
Duración del ensayo	120 horas
Protocolo	OPPTS 850.4200. EPA 712–C–96–154
Método de Evaluación	Inhibición en la elongación de la radícula. Inhibición de la germinación
Temperatura	22 ± 2ºC
Fotoperiodo	Oscuridad
Resultado final	CI50/CL50 (Concentración inhibitoria 50/concentración letal 50)
Aceptabilidad de los resultados	Germinación >90%. Control positivo y negativo de acuerdo a los valores admitidos en las cartas control

5.2.5. Procesamiento de los datos y expresión de los resultados

El bioensayo aplicado posee dos puntos finales, por ello, las variables asociadas a cada caso se analizan por separado.

1. Inhibición de la germinación

En el caso de la inhibición de la germinación, que podría considerarse como un efecto letal, el procedimiento de análisis sigue los siguientes pasos:

Basado en el número total de semillas sin germinar y el número de semillas expuestas, se calcula la proporción de inhibición de la germinación para cada dilución. A continuación se cuantifica la relación entre la proporción de semillas sin germinar y la concentración del tóxico, analizando la curva dilución-respuesta. Este procedimiento se realiza mediante una regresión lineal.

A fin de realizar las estimaciones correspondientes a los parámetros de la recta y en virtud de la relación curvilínea de las variables en juego, se procede previo al análisis de la mismas, a su transformación aplicando logaritmos en base 10 al porcentaje de dilución, y unidades probabilísticas normales (unidades Probit) a la proporción de semillas sin germinar. Las variables así transformadas son entonces analizadas, y una vez estimados los parámetros de la recta se utiliza la misma para estimar las concentraciones que causan distintas proporciones de inhibición. La más común de estas concentraciones se conoce como concentración inhibitoria 50 (CI50), y se refiere a la concentración a la cual se no germinan el 50% de las semillas expuestas. De manera semejante la concentración inhibitoria 10 (CI10) se refiere a la concentración que inhibe la germinación del 10% de las semillas expuestas.

Por otra parte, en los casos de muestras en donde la inhibición es inferior al 50%, o para determinar el valor correspondiente al NOEC (la concentración más alta a la que no se observa efecto) o LOEC (la concentración más baja a la que se observa efecto), se realiza el análisis de comparación de medias (t Student, Dunnett) para verificar la significancia estadística en el porcentaje de efecto.

2. Elongación de la raíz

En este caso se analizan dos variables continuas, concentración del tóxico y elongación de la raíz, los mismos se pueden analizar mediante métodos de regresión lineal o ANOVA.

A fin de aplicar los correspondientes métodos de regresión lineal, y teniendo en cuenta que la relación entre las dos variables no es rectilínea, la concentración se transforma aplicando logaritmos, para lograr una distribución de tipo normal en las respuestas para una concentración dada.

La variable respuesta puede o no transformarse, dependiendo de la distribución de los puntos en un gráfico bivariable, pero se expresa como el porcentaje de la diferencia con respecto al control negativo (Blanco o concentración 0).

Para efectuar la regresión en cuestión se aplican las técnicas de regresión básicas de estadística. Entre los modelos más utilizados para este tipo de variables se encuentra el Logístico, que puede ser trasformado fácilmente en una recta o se puede analizar por procedimientos de regresión no lineal, que se encuentran disponibles en la mayoría de los software estadísticos.

Las variables así transformadas son entonces analizadas y una vez estimados los parámetros de la recta se utiliza la misma para determinar las concentraciones que causan distintas proporciones de inhibición. La más común de estas concentraciones

se conoce como concentración inhibitoria 50 (CI50) y se refiere a la concentración a la cual la elongación de la raíz se reduce/exalta al 50% con respecto al control. De manera semejante, la concentración inhibitoria 10 (CI10) se refiere a la concentración que reduce/exalta al 10% la elongación de la raíz con respecto al control para determinar la NOEC o la LOEC e implica pruebas de hipótesis. El método clásico para este tipo de análisis es el ANOVA seguido a posteriori por la prueba de Dunnet.

Para este tipo de análisis se requiere que se verifiquen los supuestos de un ANOVA (varianzas homogéneas, independencia de los errores, distribución normal de los residuos, entre los más importantes), que el número de replicados por tratamiento sea igual o mayor a tres y que todos los tratamientos tengan el mismo número de replicados. Si hay menos de tres replicados no se debería proceder con una prueba de hipótesis, y si el número de replicados varía entre los tratamientos, se debería utilizar en lugar de la prueba de Dunnet, la prueba de t con el ajuste de Bonferroni. La homogeneidad de varianzas se puede evaluar con la prueba de Bartlett y la distribución normal de los residuos con la prueba de Shapiro – Wilk.

Es importante destacar que de no verificarse los supuestos del ANOVA será necesario proceder a la transformación de la variable dependiente (respuesta), hasta obtener una que verifique dichos supuestos, o aplicar métodos no paramétricos como la prueba de Kruskal-Wallis, seguido del método de Fiedman para la comparación a posteriori, o la prueba de rangos de Steel Many o la prueba de suma de rangos de Wilcoxon con el ajuste de Bonferroni.

5.2.6. Resultados

A continuación se presenta los resultados obtenidos para la especie y compuestos ensayados. Solo se presenta los resultados de inhibición de la germinación en el próximo informe se presentarán los resultados de inhibición de la elongación.

Tabla 5: Concentración inhibitoria 50 (CI_{50}) expresada en mg/L del metal para la germinación correspondiente a cada compuesto ensayado con *Lactuca sativa*

Metal	CL_{50}	Límite inferior 95%	Límite superior 95%	Unidades	Método de estimación
Cadmio	11,293	7.293	15,572	mg/l	Probit
Cobre	4,518	4,121	4,988	mg/l	Probit
Cromo	3,473	3,045	3,820	mg/l	Probit
Mercurio	6,260	5,334	7,220	mg/l	Probit
Níquel	10	-	-	mg/l	Probit
Zinc	20	-	-	mg/l	Probit

5.3. Conclusiones

Los resultados obtenidos para el crustáceo *Cypridopsis vidua* muestran una sensibilidad a los tóxicos dentro de la observada para otras especies de crustáceos como los cladóceros y

los anfípodos, ubicándose en este caso, en el sector superior de la distribución de sensibilidades de los crustáceos. El metal que presentó mayor toxicidad fue el Hg(II) y el de menor toxicidad el Cr(IV). Respecto del orden de las toxicidades (Hg(II) > Cd(II) > Cu(II) > Zn(II) > Ni(II) > Cr(IV)) es el observado para otras especies de crustáceos excepto para el cromo, cuya toxicidad suele ser superior a la del cinc y el níquel.

En el caso de la lechuga, que es un ensayo internacionalmente estandarizado, los valores obtenidos se encuentran dentro de los intervalos de sensibilidad informados para esta especie. El metal con mayor toxicidad fue el cromo y el de menor toxicidad el cinc.