

# LA ECOTOXICOLOGÍA APLICADA A LA EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN DE LOS RÍOS: EL CASO DEL RÍO RECONQUISTA

Palabras clave: bioensayos, puntos finales, aguas receptoras, sedimentos, polución.  
Key words: bioassays, endpoints, receiving waters, sediments, pollution.

Desde un enfoque ecotoxicológico, los organismos vivos son herramientas esenciales para la evaluación de la calidad ambiental. Los estudios ecotoxicológicos se basan en el supuesto de que los organismos son sensibles a contaminantes presentes en el ambiente, siendo factible establecer una correlación causal entre el tipo y grado de contaminación y sus respuestas mediante variables biológicas seleccionadas, a las que se denomina puntos finales y que comprenden una amplia gama de efectos, agudos y crónicos, deletéreos o no deletéreos, en distintos niveles de organización, desde el molecular al poblacional. Los puntos finales seleccionados dependen fundamentalmente de los objetivos del estudio. La evaluación de los mismos se realiza experimentalmente en bioensayos de ecotoxicidad siendo la tendencia utilizar especies nativas.

El río Reconquista, en el noroeste de la provincia de Buenos Aires es uno de los cursos de agua de mayor importancia por su extensión, caudal y fundamentalmente porque gran parte de sus recorridos cruzan zonas de gran densidad poblacional. Se trata de uno de los ríos más contaminados de la Argentina. Nuestro grupo de investigación ha trabajado por décadas en la evaluación ecotoxicológica del río utilizando principalmente especies nativas, entre ellas un pez (*Cnesterodon decemmaculatus*), un crustáceo (*Hyalella curvispina*) y un anfibio (*Rinella arenarum*) haciendo hincapié tanto en los efectos de la exposición al agua o sedimento del río como a su caracterización toxicológica, con fines de validación de las mismas.

Este artículo relata algunos de los resultados de dichos estudios que representan aportes de incorporación potencial a programas de biomonitorio de ambientes acuáticos continentales.

From an ecotoxicological approach, living organisms are critical tools for the evaluation of the environmental quality. Toxicological studies are based on the premise that organisms are sensitive to pollutants present in the environment. So, they allow to establish a causal correlation between the type and level of contamination and its responses through selected biological variables called endpoints, that cover a wide variety of effects (acute and chronic, deleterious and non-deleterious) at different levels of organization (from the molecular to the population level). The selected endpoints are fundamentally dependent on the study's purposes. The endpoints assessment is carried out experimentally in ecotoxicity bioassays with a tendency to use native species.

The Reconquista river, in the northwest of the Buenos Aires province, is one of the most important water bodies due to its extension, flow and, fundamentally, because a great part of its trajectory goes through areas with high population density. It is one of the most polluted rivers in Argentina. Our research group has worked for decades on the ecotoxicological assessment of the river using primarily native species, including a fish (*Cnesterodon decemmaculatus*), a crustacean (*Hyalella curvispina*) and an amphibian (*Rinella arenarum*), with emphasis on the effects of water or sediment exposure and its toxicological characterization, with the aim of validating them.

This article presents some of the results of said studies which could potentially be added to biomonitoring programs of continental water environments.

El agua es uno de los recursos naturales más importantes que se encuentra en alto riesgo por acción

de la contaminación. La preservación de su biota es un objetivo primordial, como un fin en sí mismo

y, en parte, porque el agua es una fuente de biodiversidad potencialmente utilizable por el hombre.

## Lucrecia Ferrari

-Programa de Ecofisiología Aplicada, PRODEA; Departamento de Ciencias Básicas; Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable, INEDES- Universidad Nacional de Luján,  
-Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC-Bs As)

E-mail: lferrari@mail.unlu.edu.ar

En nuestro país, el conocimiento de la condición sanitaria de los ambientes acuáticos es incompleto y desigual, la evaluación de la calidad de las aguas dulces y el monitoreo integrado de la polución acuática se encuentra restringido tanto geográfica como temporalmente.

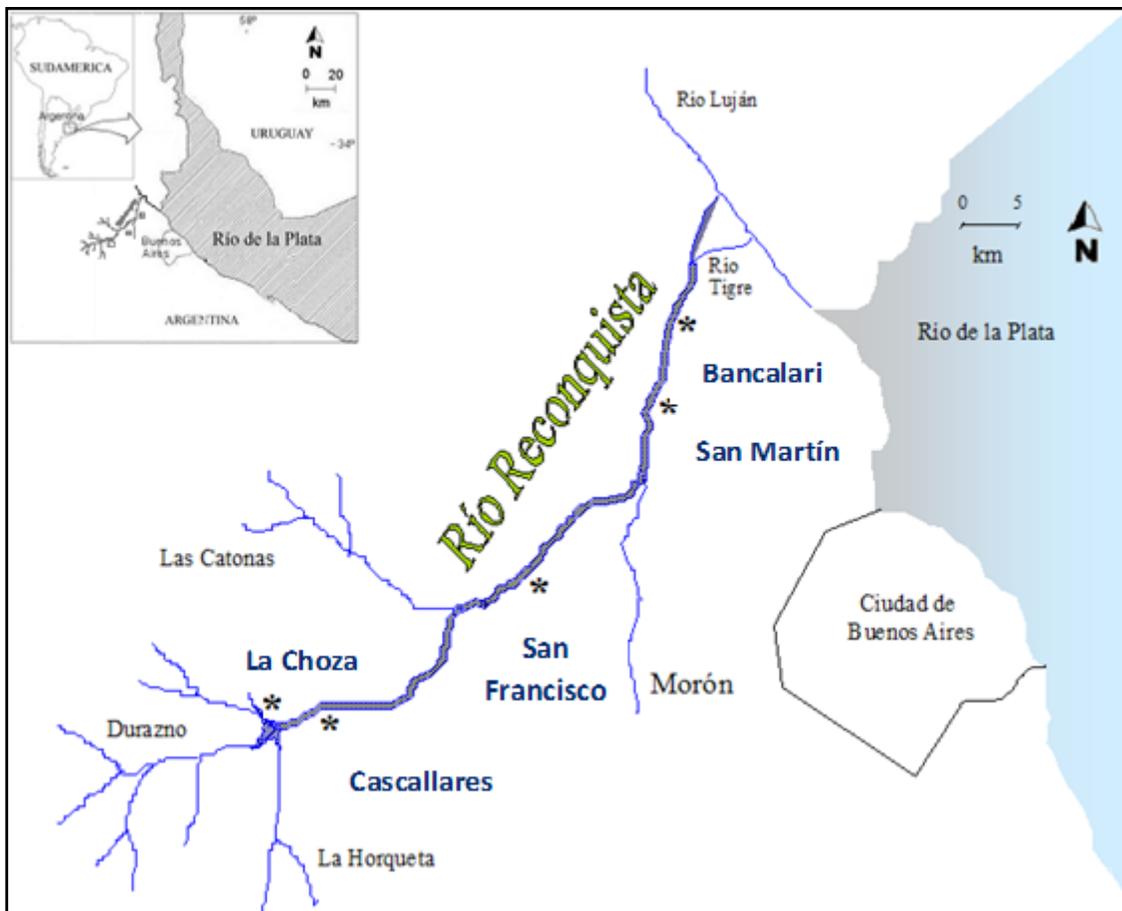
En el noroeste de la provincia de Buenos Aires, los ríos Matanza-Riachuelo, Reconquista y Luján son los de mayor importancia por su extensión, caudal y fundamentalmente porque gran parte de sus recorridos cruzan zonas de gran densidad poblacional (Informe de la Defensoría del Pueblo de la Nación, 2007). En particular, la cuenca del río Reconquista abarca una superficie de 1574 km<sup>2</sup>. Su cauce principal tiene

82 kilómetros y su red de drenaje se extiende en catorce partidos, que albergan aproximadamente al 11% de la población del país (Salibián, 2006).

El Reconquista es un típico río de llanura, se origina de la confluencia de los arroyos La Choza, el Durazno y la Horqueta y desemboca en el río Luján, ingresando así al estuario del río de la Plata (Figura 1). La cuenca alta se halla en una zona con actividad agropecuaria que se continúa con actividades hortícolas y urbanizaciones, las que vierten sus residuos a algunos de los arroyos. Estos alimentan el lago San Francisco, originado por la construcción de la represa Roggero, que es considerada el inicio del cauce principal del

río. Una vez formado, el cauce principal sólo recibe caudales de cierta importancia por parte de los arroyos Las Catonas y Morón en la cuenca media. Aguas debajo del arroyo Morón se inicia la cuenca inferior, que luego se interna en las terrazas bajas del valle del Luján, sector en el que el cauce se bifurca en dos cursos naturales: los ríos Tigre y Reconquista Chico y en un tercer canal artificial (Canal Aliviador) que ingresan al Delta (Informe de la Defensoría del Pueblo de la Nación, 2007).

Respecto a la distribución de la población, el tramo superior presenta una baja densidad poblacional, con unas 72.000 ha utilizadas en actividades agropecuarias y a partir del tramo medio, una elevada densidad,



**Figura 1:** Localización geográfica de la cuenca del Río Reconquista y de los sitios de muestreo (\*). La Choza en la desembocadura en el lago San Francisco, (Represa Roggero), Cascallares (Cas), San Francisco (SF), San Martín (Sm), Bancalari (Ban).

con unas 95.000 ha urbanizadas.

A partir de la brevísima descripción precedente se deduce tácitamente que el cauce del río Reconquista recibe aportes de contaminación de muy diversa índole a lo largo de todo su recorrido. La represa Roggero, en el partido de Moreno, construida con la finalidad de reducir los desbordes producidos por las crecidas del río (Sadañowski, 2003), puede ser considerada como una unidad transformadora de los materiales transportados por el río y la calidad de sus aguas, particularmente las provenientes de los arroyos La Chozza y el Durazno que ingresan a la represa con vertidos de tipo cloacal, entre otros (Basílico, 2014). Sin embargo, ya al inicio del tramo medio del río y con mayor intensidad luego de la confluencia del arroyo Morón, la calidad de las aguas disminuye drásticamente llegando hasta niveles de séptico cloacal.

Para encarar la evaluación de la contaminación de un río, es importante contextualizarlo como objeto de estudio. Así, podría definirse a un río como un ecosistema circulante, en el que conviven e interactúan las diferentes comunidades. En términos generales, la evaluación del estado de contaminación de un curso de agua es un estudio complejo, multidisciplinario en su enfoque y de obligada interpretación integrativa. Inevitablemente, se debe analizar la fisicoquímica del agua y de los sedimentos, la biodiversidad en las distintas comunidades acuáticas (plancton, necton, bentos, perifiton, etc.) y la influencia de los ecosistemas linderos sobre el ecosistema de estudio. Resulta muy valioso identificar variables indicadoras del "estado de salud" del curso de agua, y establecer líneas de base para los mismos a fin de contar con herramientas sólidas que puedan incorporarse a los estudios de monitoreo

de contaminación y ser utilizados en evaluación de impacto ambiental con fines predictivos. Es en este contexto, y como parte de la evaluación de la biodiversidad, donde se incorporan los estudios ecotoxicológicos tendientes a identificar efectos perjudiciales de la contaminación sobre la biota acuática. Subyace la necesidad de contar con conocimientos amplios de estos ambientes en condiciones "normales", sin la influencia de contaminación antrópica.

Es importante tener en cuenta que la evaluación de calidad de los ambientes hídricos está considerada por los lineamientos de la Ley nacional 24.051 de Residuos Peligrosos y su Decreto Reglamentario 831/93 y la Resolución 2423/93 de la Secretaría de Recursos Naturales y de Ambiente Humano. En la Resolución 619/98 son incorporados en forma de Anexo, por primera vez, lineamientos más precisos en la elaboración de evaluaciones ecotoxicológicas; se hace referencia a la evaluación de la toxicidad aguda, patogenicidad e infectividad de las muestras a analizar y se menciona la utilización de especies autóctonas en los ensayos de evaluación. Sin embargo, aún en la actualidad se carece de la adaptación de los límites sugeridos en los niveles guía a las características particulares de los cuerpos de agua del territorio nacional.

Desde un enfoque ecotoxicológico, los organismos vivos son herramientas esenciales para la evaluación de la calidad ambiental. Los estudios ecotoxicológicos se basan en el supuesto de que los organismos son sensibles a contaminantes presentes en el ambiente, siendo factible establecer una correlación causal entre el tipo y grado de contaminación y sus respuestas mediante variables biológicas seleccionadas,

a las que se denomina puntos finales o *endpoints* y que comprenden una amplia gama de efectos agudos y crónicos, deletéreos o no deletéreos, en distintos niveles de organización, desde el molecular al poblacional. Los puntos finales seleccionados dependen fundamentalmente de los objetivos del estudio. La evaluación de los mismos se realiza experimentalmente en bioensayos de ecotoxicidad.

Según Finney (1978), bioensayo es un experimento para estimar la naturaleza, constitución o potencia de un material mediante la reacción que sigue un organismo vivo. Un bioensayo típico involucra un estímulo o dosis absorbible que es aplicada a un sujeto cuya respuesta a dicho estímulo se estima mediante el cambio en algunas características biológicas o el estado del sujeto. Debe tenerse en consideración que los bioensayos ecotoxicológicos acuáticos tienen por objetivo último proveer del conocimiento necesario para proteger, a las poblaciones y comunidades de dichos ambientes, de la exposición a diferentes tóxicos en concentraciones que pueden estar asociadas a efectos adversos.

Las condiciones experimentales bajo las que se realizan los ensayos deben ser reproducibles y estandarizadas para permitir establecer la validez de una hipótesis determinada. Además, los organismos de ensayo deben preferentemente representar funciones ecológicas relevantes en el ambiente que se evalúa y contar con una importante base de conocimiento biológico. La literatura permite apreciar que existe un alto grado de estandarización para bioensayos que utilizan como puntos finales letalidad, sobrevivencia, reproducción, entre otros, con una gran variedad de especies de prueba y que son aplicables a aguas receptoras, sedimentos y efluentes en

condiciones de laboratorio. Numerosos manuales de procedimiento o *guidelines* desarrollados por USEPA, EC, OECD, ASTM, ISO, IRAM, etc. indican las protocolizaciones para los mismos. Estos bioensayos son útiles para el propósito de monitoreo y, básicamente, apuntan a objetivos ecotoxicológicos netamente prácticos. No obstante, la gran mayoría de las especies estandarizadas y validadas para evaluaciones de ecotoxicidad pertenecen al Hemisferio Norte; las mismas fueron seleccionadas sobre la base de la presencia en sus ambientes y de su profundo conocimiento biológico. Esta situación plantea la necesidad de identificar y estudiar toxicológica y biológicamente el comportamiento de especies que sean representativas de nuestros ambientes, ya que aún en la actualidad la información ecotoxicológica sobre especies neotropicales es escasa; es entonces prioritaria la validación de especies nativas para evaluaciones ecotoxicológicas, a fin de disminuir la incertidumbre en los trabajos de monitoreo. Por lo tanto, la incorporación de bioensayos en el monitoreo de ecotoxicidad en Argentina requiere, entre otros aspectos, del desarrollo e instrumentación de metodologías adecuadas y adaptadas a nuestras necesidades, selección de organismos a utilizar y puntos finales en los ensayos.

Los esfuerzos de los ecotoxicólogos acuáticos se orientan cada vez con mayor intensidad en dirección a la identificación de variables biológicas de efecto temprano (biomarcadores) en especies centinela, cuantificando sus modificaciones luego de estar en contacto con tóxicos particulares o con mezclas de ellos (Lagadic y col., 1997). Los biomarcadores se definen ampliamente como indicadores de eventos en muestras o en sistemas biológicos y se refiere a cambios fisiológicos, bioquímicos, histológicos y com-

portamentales, entre otros, que se pueden detectar como consecuencia del contacto del organismo con el xenobiótico, desde un nivel de organización molecular y celular en adelante (Boudou y Ribeyre, 1997; Eissa y col., 2003). La medición de determinados biomarcadores en organismos provenientes de sitios contaminados pueden ser un importante componente informativo de un programa de monitoreo ambiental: tomando como referencia los niveles basales de dichos parámetros (ie. controles), el registro de alteraciones devienen en señales de alerta confiables del grado de deterioro de un ambiente determinado. En la última década los biomarcadores han adquirido un papel más activo en las evaluaciones ambientales siendo incorporados en varios programas de monitoreo ambiental en Europa y los Estados Unidos, aunque no ha sido incorporado aún dentro de los Programas Nacionales de monitoreo en nuestro país.

Resulta entonces un desafío diseñar programas de monitoreo de cursos de agua confiables, que tengan en consideración tanto el rigor metodológico requerido por los protocolos internacionales como las particularidades regionales y, en este sentido, es fundamental profundizar en el conocimiento biológico de la biota nativa. En relación a éste último punto, para el uso de biomarcadores en evaluaciones de contaminación ambiental a nivel regional es crucial conocer la variabilidad de fondo de los mismos en los organismos prueba.

Uno de los objetivos de nuestro grupo de trabajo es evaluar la utilidad de diferentes herramientas biológicas en la detección de deterioro de la calidad ambiental, particularmente de ríos y arroyos de la provincia de Buenos Aires, utilizando como organismos de ensayo prin-

cipalmente especies nativas, entre ellas un pez (*Cnesterodon decemmaculatus*), un anfípodo (*Hyalella curvispina*) y un anfibio (*Rinella arenarum*, ex *Bufo arenarum*), pero también algunas especies ya validadas, como el pez *Cyprinus carpio*.

#### ■ LAS ESPECIES DE ENSAYO (Fig. 2)

***Rinella arenarum*.** El típico ciclo de vida bifásico de los anfibios, que implica transcurrir por un periodo en el agua, como embriones y larvas y en el ambiente terrestre como adultos, los expone a una gran variedad de condiciones ambientales. Típicamente, la etapa de vida acuática habitualmente se desarrolla en cuerpos de aguas someras, muchas veces asociados a áreas agrícolas. Por otro lado, las larvas de los anfibios tienen una epidermis muy permeable que incrementa la vulnerabilidad a las condiciones ambientales adversas poniéndolas en íntimo contacto con el ambiente, aumentando su susceptibilidad frente a los cambios, entre ellos, la presencia de contaminantes (Mann y col., 2009). Embriones y larvas también representan un componente clave en las tramas tróficas cumpliendo un importante rol en la transferencia de energía y nutrientes a través de las redes tróficas acuáticas y terrestres. Estas características hacen de los primeros estadios de vida de los anfibios organismos prueba muy valiosos y, además, desde una perspectiva experimental práctica resultan un excelente material, ya que mediante la inducción hormonal de ovulación de hembras, los embriones se obtienen en laboratorio por fertilización *in vitro* en gran cantidad: en *R. arenarum* (sapo común) cada ovoposición contiene entre 30000 y 40000 ovocitos (Mardirosian, 2014). Si bien *R. arenarum* aún no es una especie validada para su uso en bioensayos de monitoreo, es muy utilizada a nivel regional con fines experimentales por diferentes

grupos de investigación nacionales, especialmente en etapa embrionaria y, en este sentido, merece mencionarse los protocolos Anfitox (Herkovits y Pérez-Coll, 1999). La estandarización del protocolo de ensayo agudo de letalidad con larvas fue realizada por nuestro grupo (Ferrari y col., 1997).

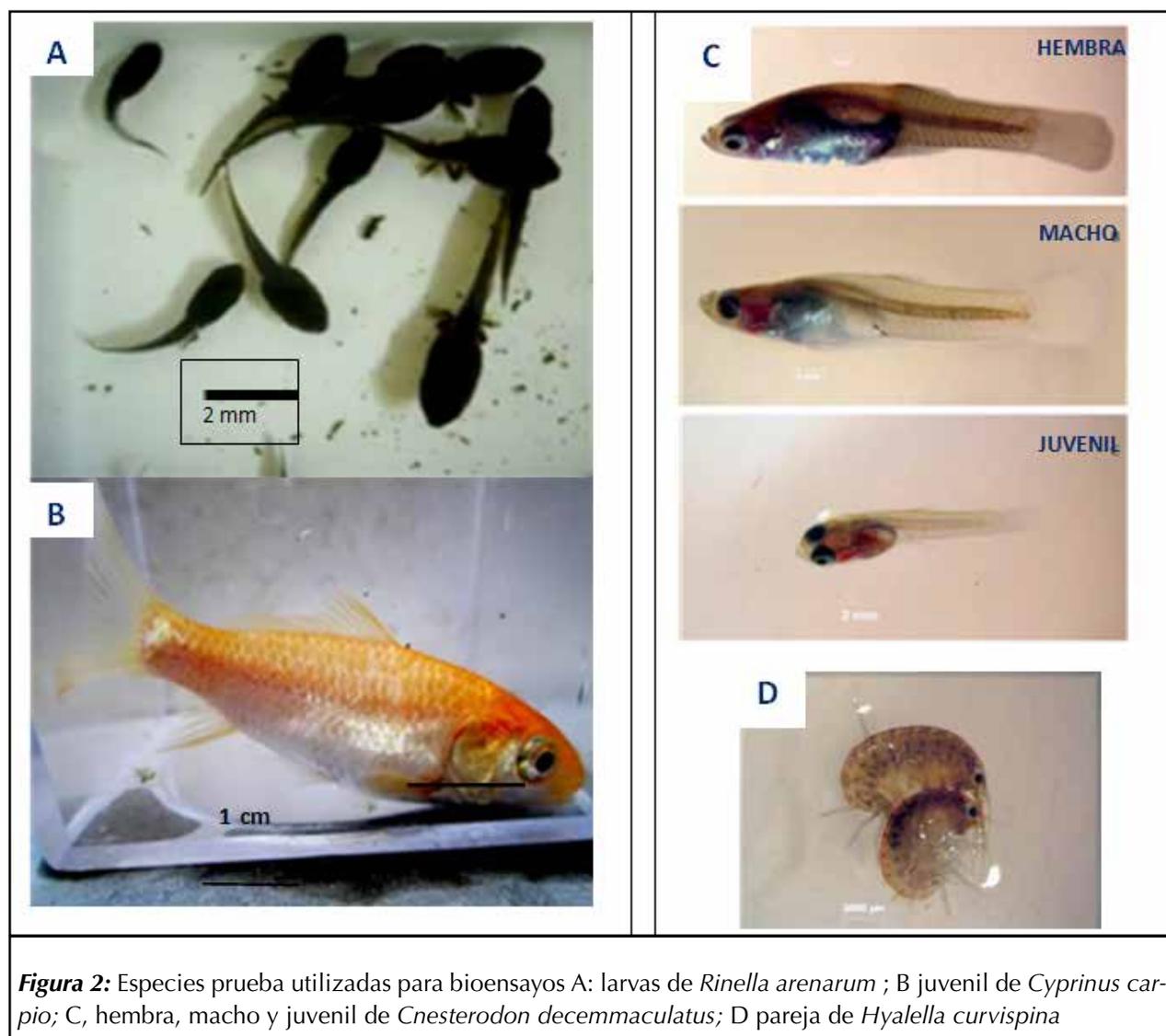
***Cnesterodon decemmaculatus*.**

Se trata de un pequeño pez comúnmente nominado "madrecita". Es una especie bentopelágica, de agua dulce a salobre. Tiene una amplia distribución tanto en ríos y arroyos como en ambientes lénticos de la Argentina. Es omnívoro, vivíparo, con marcada diferenciación sexual, gran

éxito en su estrategia reproductiva, de rápido crecimiento y corta vida generacional. Estas características sumadas a su fácil mantenimiento en laboratorio han determinado su elección habitual como organismo prueba en bioensayos de ecotoxicidad a nivel regional. Por otra parte, desde hace algunos años ha sido incluida entre las especies recomendadas para la realización de bioensayos (IRAM 29112/2008), se ha normatizado su cría en laboratorio para fines experimentales (Somma y col., 2011a) y se han realizado estudios tendientes a su caracterización toxicológica (Mastrángelo y Ferrari, 2013). Además, por ser un habitante normal del río Reconquista (hasta

su tramo medio) ofrece una amplia gama de perspectivas experimentales y de estudio.

***Cyprinus carpio*.** Se trata de la carpa común. Es una especie introducida como pez ornamental y como fuente de alimento; actualmente tiene una distribución global. Se trata de un teleosteo bentopelágico, de agua dulce o salobre y se lo halla en aguas de corriente débil o nula; su alimentación está compuesta de algas, plantas acuáticas mayores, plancton, pequeños animales o partículas filtradas del barro (Eissa, 2009). Se trata de una especie validada y se encuentra entre las recomendadas para su uso en diferentes



bioensayos de toxicidad por USEPA, OECD entre otras; además, existe una enorme cantidad de bibliografía que la refiere como organismo de ensayo.

***Hyalella curvispina*.** Es un pequeño crustáceo (anfípodo) de agua dulce, normalmente epibentónico y asociado a macrófitas, representativo del complejo zoobentónico de Sudamérica austral. Esta especie es taxonómicamente cercana a la especie de anfípodo validada a nivel internacional, *Hyalella azteca*, y abundante en cuerpos de agua dulce de la región pampásica. Teniendo esto en consideración, desde hace años en Argentina se vienen realizando esfuerzos para evaluar efectos de contaminación de agua y sedimentos sobre *H. curvispina* (Di Marzio y col., 1999; 2005; Jergentz y col., 2004; Doyle y Momo, 2009; García, 2009; García y col., 2010; 2012; Peluso, 2011; Peluso y col., 2011; Mugni y col., 2011). Por lo tanto, por varias razones, incluyendo su amplia distribución geográfica, fácil cría en laboratorio (Somma y col., 2011b) y por ser parte de la fauna nativa en el área, hay una creciente preocupación por ampliar el conocimiento tanto de su biología como su respuesta a diferentes agentes tóxicos.

## ■ ALGUNOS RESULTADOS

En relación con la evaluación ecotoxicológica en el río Reconquista se han implementado bioensayos de ecotoxicidad con aguas receptoras y sedimentos para evaluación de letalidad y subletalidad y cuantificado efecto sobre diferentes biomarcadores bioquímicos, tanto *in situ* como en laboratorio; se ha contribuido a la estandarización de la cría en cautiverio de los organismos prueba y de protocolos de ensayo en diferentes matrices, e incorporado nuevos puntos finales.

## ■ EVALUACIÓN ECOTOXICOLÓGICA DEL AGUA

Los primeros trabajos se remontan a la década del 90, cuando se implementaron bioensayos agudos de mortalidad en aguas receptoras, utilizando como organismos de ensayo a juveniles de *C. decemmaculatus* y larvas de *R. arenarum*. La finalidad que se perseguía era la de incorporar información, que conformara una herramienta más en el diagnóstico de la calidad del agua del río Reconquista y correlacionar el perfil fisicoquímico del agua con el grado de toxicidad de la misma.

Los sitios de muestreo de aguas durante esta primera etapa fueron en el cauce del río. Para los bioensayos agudos de letalidad se seleccionaron muestras de agua de la estación Cascallares (Cas) a pocos kilómetros de la represa Roggero, que se tomó como sitio control del río; San Francisco, (SF), anterior a la desembocadura del arroyo Morón y las estaciones San Martín (SM) y Bancalari (Ban), posteriores a la desembocadura de aquel, que fueron los sitios de mayor polución (Figura 1). Se realizaron series mensuales de bioensayos agudos de letalidad durante dos años, con muestras de agua del río a las que también se efectuó un perfil fisicoquímico para determinar nivel de calidad del agua.

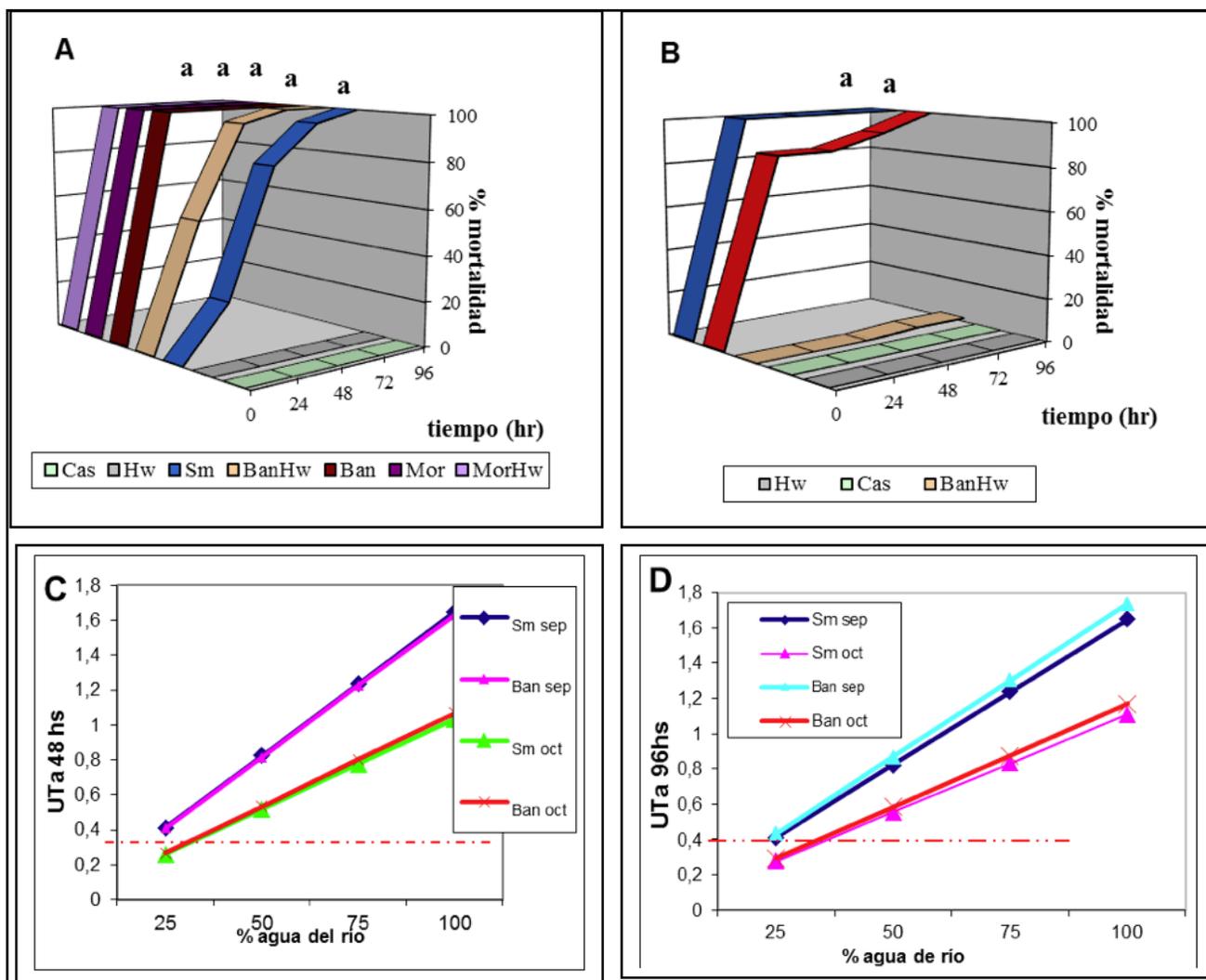
## ■ ALGUNOS ENSAYOS AGUDOS

Para la realización de los bioensayos se utilizaron cuatro aproximaciones en serie de pasos consecutivos. La primera fue la obtenida a partir de la exposición directa de los organismos prueba a las muestras de agua determinando la posibilidad de los mismos de sobrevivir (*test pass or fail*). Otra fue la evaluación de mortalidad de los organismos expuestos como respuesta cuántica frente a diferentes diluciones de las muestras

de agua para estimar como punto final al NOEC (*Non Observed Effect Concentration*) que correspondería a aquella dilución de la muestra que no presentó una respuesta (mortalidad) distinta de la de los controles. El tercer enfoque, que permite hacer mayores inferencias respecto a la toxicidad de la muestra, fue la estimación a diferentes tiempos de las diluciones que producen la mortalidad del 50% de los organismos expuestos (CL50s). El cuarto enfoque, propuesto como otra forma de expresar los resultados, correspondió a las llamadas Unidades de Toxicidad (UT), que, definidas arbitrariamente, vinculan los valores de CL50s obtenidos con la toxicidad de una muestra en particular (Rand, 1995; Bervoets y col., 1996). Las unidades de toxicidad aguda (UTas), en particular, son expresiones de toxicidad aplicadas tanto en la evaluación de efluentes y aguas receptoras así como para estudios con tóxicos (Vlaming y col., 2000; Maltby y col., 2000).

A modo de ejemplo se muestran en la Figura 3 algunos resultados de dos bioensayos realizados en dos meses consecutivos con larvas de *R. arenarum*. La información detallada se encuentra en Ferrari et al. (2005).

En la Figura 3 A y B se observa que: el agua de Cas no tiene efecto sobre la mortalidad, habilitando su uso como control natural; el agua de SM y Ban, así como la del arroyo Morón, producen 100% de mortalidad en las primeras 24 horas de exposición; que la dilución del agua de Ban al 50% si bien reduce la mortalidad en ambos casos muestra un efecto particularmente importante en uno de ellos (Figura 3B) indicando toxicidad diferencial entre muestras distintas de un mismo sitio. Es importante destacar que la respuesta letal determinada a 48 horas del inicio del ensayo permanece inalterada



**Figura 3:** Mortalidad acumulada de larvas premetamórficas de *Rinella arenarum* incubadas durante 96 hs en agua del río Reconquista. A: Bioensayo de setiembre; B: Bioensayo de octubre; C y D: Unidades de toxicidad aguda (UTA) para muestras de agua de Sm y Ban diluidas con medio control en bioensayos de setiembre y octubre a 48 y 96 hs de exposición respectivamente.

HW: medio control, agua dulce artificial dura; Cas: agua de estación de muestreo Cascallares; SM: agua de estación de muestreo San Martín; Ban: agua de estación de muestreo Bancalari; BanHw: agua de estación de muestreo Bancalari diluida 50% con medio control; Mor, agua del arroyo Morón; MorHW, agua del arroyo Morón diluida al 50% con medio control. Sm sep: San Martín setiembre; Sm oct: San Martín octubre; Bansep: Bancalari setiembre; Ban oct: Bancalari octubre. La línea de puntos representa el valor máximo de toxicidad (en UTs) adoptado por la US EPA para efluentes industriales. a: significativamente diferente de HW y Cas.

hasta la finalización del mismo sugiriendo así que el bioensayo podría ser más breve sin afectar la calidad de la información.

En la Figura 3 C y D se muestran los resultados expresados en unidades de toxicidad (UT). La US EPA (1991) indica para efluentes indus-

triales valores máximos de 0,3 UTA reportados para la más sensible de tres especies centinela (línea punteada). Los valores de UTA para las muestras de agua de SM y Ban superaron entre 3 y 6 veces el nivel de 0,3 (100% agua del río) llegando a valores cercanos al de referencia recién con una dilución del 75% (25%

agua de río).

Con juveniles de *C. decemmaculatus* se diseñaron bioensayos agudos de letalidad determinando su sensibilidad al contrastar las respuestas biológicas con el perfil fisicoquímico de las muestras analizadas. Aquí se resumen algunos de

esos resultados publicados en de la Torre y col. (1997).

Las muestras de agua para realización de bioensayos y caracterización fisicoquímica, se tomaron en los meses de febrero, marzo, abril y mayo de 1995 de Cascallares (Cas), San Martín (Sm) y Bancalari (Ban). La fisicoquímica correspondiente a las muestras del agua está indicada en la Tabla 1. Los ensayos fueron de 96 horas con registro diario de mortalidad. Se corrieron controles negativos de agua dura artificial (HW), control positivo de tóxico referente de 4 mg/L de cadmio en (HW-Cd) y

agua del río de Cas, SM y Ban con y sin el agregado de un pulso de 4 mg/L Cd. Se comparó la mortalidad acumulada de peces incubados en agua del río y agua de río + Cd respecto a los controles en HW. Los grupos control HW fueron similares en los tres bioensayos (mortalidad < 10%); la mortalidad del grupo control positivo de tóxico referente fue semejante en todos los bioensayos alcanzando valores cercanos al 60% a las 96 horas de exposición. Estas respuestas permitieron concluir que los organismos prueba se encontraban en condiciones comparables de sensibilidad entre ensayos y en

consecuencia las respuestas de mortalidad registradas en las aguas del río podían atribuirse de manera inequívoca al efecto de las mismas. Los peces expuestos a muestras de Cas tuvieron una respuesta uniforme en todos los casos, no difiriendo de controles HW ni entre sí. La mortalidad media acumulada en SM y Ban mostró diferencias significativas entre ensayos, tratamientos y tiempos. La incorporación de cadmio a las muestras de Sm y Ban aumentó marcadamente la toxicidad de las mismas.

Como se desprende de la lec-

**Tabla 1:** Parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua del río Reconquista utilizadas en bioensayos con juveniles de *C. decemmaculatus*.

	febrero			marzo			abril			mayo			MPQ
	Cas	Sm	Ban	Cas	Sm	Ban	Cas	Sm	Ban	Cas	Sm	Ban	
pH	9.3	8.9	7.9	8.6	8.2	8.3	8.0	7.9	7.6	7.8	7.7	7.7	
Alcalinidad mM CaCO <sub>3</sub>	10.4	11.5	10.8	7.9	9.5	9.5	4.0	9.2	10.8	4.0	5.6	5.6	
Dureza mM CaCO <sub>3</sub>	1.3	2.0	1.9	1.5	1.6	1.4	0.8	1.4	2.0	0.8	1.2	1.2	
Conductividad uS. cm <sup>-1</sup>	1550	1711	1696	1092	1281	1151	810	917	628	357	609	628	
O.D. mg O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	6.6	0	0	8.2	1.0	1.6	6.7	0.6	0	8.9	2.3	1.0	
Amonio mg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> .L <sup>-1</sup>	0.8	16.1	14.7	0.4	6.3	6.9	0.4	10.6	16.7	0.4	6.5	6.3	1.13
Nitritos mg N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup>	<0.01	s.m.	<0.01	0.1	0.5	0.6	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	0.5	0.02
Nitratos mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .L <sup>-1</sup>	0.3	s.m.	0.8	0.8	s.m.	0.5	2	s.m.	1.4	0.7	s.m.	1.7	
Cloruros mg.L <sup>-1</sup>	81	129	130	71	95	82	61	78	155	20	48	50	
DBO <sub>5</sub> mg O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	6.5	22.0	23.8	2.8	19.8	11.7	2.6	23.3	63.5	2.6	10.9	8.4	
DQO mg O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	92	s.m.	>150	70	116	80	61	245	288	65	64	73	
Fosfatos mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> .L <sup>-1</sup>	2.6	4.1	5.1	2.4	2.3	2.4	1.5	4.4	6.9	1.5	2.2	2.4	
Fenoles mg. L <sup>-1</sup>	0.3	0.9	0.9	0.5	0.7	0.3	0.9	0.9	1.7	0.9	0.7	1.1	0.01
<b>Metales pesados</b>													
ppb													
Arsenico	s.m.	s.m.	s.m.	10.0	s.m.	<30.0	<10.0	s.m.	<10.0	s.m.	s.m.	s.m.	50
Cadmio	5.0	s.m.	3.0	11.0	s.m.	<1.0	6.0	s.m.	3.0	5.0	s.m.	10.0	2
Cromo	s.m.	s.m.	s.m.	40.0	s.m.	15.0	20.0	s.m.	300.0	s.m.	s.m.	s.m.	2
Cobre	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	20.0	s.m.	15.0	s.m.	s.m.	s.m.	0.8
Plomo	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	s.m.	20.0	s.m.	15.0	s.m.	s.m.	s.m.	2
Zinc	s.m.	s.m.	80	230	s.m.	40.0	70.0	s.m.	100.0	200.0	s.m.	30.0	30

**Cas:** Cascallares; **Sm:** San Martín; **Ban:** Bancalari. s.m: sin muestrear. MPQ: Máximas cantidades permitidas por la Ley 24051 para la protección de la vida de agua dulce

tura de la Tabla 1, se observó una importante contaminación orgánica reflejada principalmente por valores elevados de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5) y amonio ( $\text{N-NH}_4^+$ ); otro tanto ocurrió con las concentraciones de fenoles y nitritos. Cabe señalar además, que en Sm y Ban el oxígeno disuelto (OD) presenta siempre valores muy reducidos. Fue evidente el deterioro de la calidad del agua de río aguas abajo, tanto en Sm como Ban, con niveles de contaminantes siempre superiores a los de Cas y a los límites establecidos por la legislación vigente. Mediante un análisis de regresión de tipo *stepwise forward* se estudió la relación entre los parámetros fisicoquímicos del agua de río, tomados como variables independientes y la tasa de mortalidad acumulada registrada en las últimas 48 horas del ensayo (72 y 96 horas) como variable dependiente. Se incluyeron dentro del análisis los resultados de los cuatro bioensayos. Las variables independientes seleccionadas por el modelo se presentan en las siguientes ecuaciones:

$$P_{72} = 251,34 + 0613 \times [\text{Cl}^-] - 33,87 \times [\text{pH}] - 33,26 \times [\text{N-NO}_2^-]$$

$$R^2 = 0,84; R^2_{\text{aj}} = 0,83; \text{g.l.} = 47; F = 79,28; p < 0,001$$

$$P_{96} = 225,81 + 0,702 \times [\text{Cl}^-] - 30,74 \times [\text{pH}] - 43,67 \times [\text{N-NO}_2^-]$$

$$R^2 = 0,89; R^2_{\text{aj}} = 0,88; \text{g.l.} = 47; F = 114,06; p < 0,001$$

Donde:

P: mortalidad acumulada;  $R^2$ : coeficiente de determinación múltiple;  $R^2_{\text{aj}}$ : r cuadrado ajustado; g.l.: grados de libertad; F: valor de Fisher; p: nivel de significación estadística.

Este análisis de regresión incluyó tanto para las 72 como 96 horas a los nitritos, los cloruros y el pH como factores responsables de la mortalidad. A su vez la presencia de altos niveles de cloruros en las muestras de agua indicaría la presencia de efluentes domiciliarios y de descargas industriales. Estos resultados presentaron una técnica original de bioensayo con formas juveniles de

un teleosteo nativo como organismo centinela.

Cabe señalar que los bioensayos para evaluación de la calidad del agua de un río quedan validados toda vez que brindan resultados coherentes con los derivados de los análisis fisicoquímicos. El método desarrollado y descrito en nuestro laboratorio resultó una técnica confiable, ya que sus resultados fueron coincidentes independientemente del método de análisis utilizado para cuantificar la respuesta de los organismos de ensayo y, por ello, consideramos que esta metodología puede adoptarse en la batería de ensayos utilizados para realizar el monitoreo ecotoxicológico de cuerpos de agua contaminados.

## ■ BIOMARCADORES

El diseño experimental seguido para evaluación de biomarcadores en peces se muestra en la Figura 4. En hembras adultas de *C. decemmaculatus* capturadas en la localidad de Cascallares (Cas) y San Francisco (SF) (Figura 1) se evaluó la respuesta de los biomarcadores comparándola con la de ejemplares de la misma es-

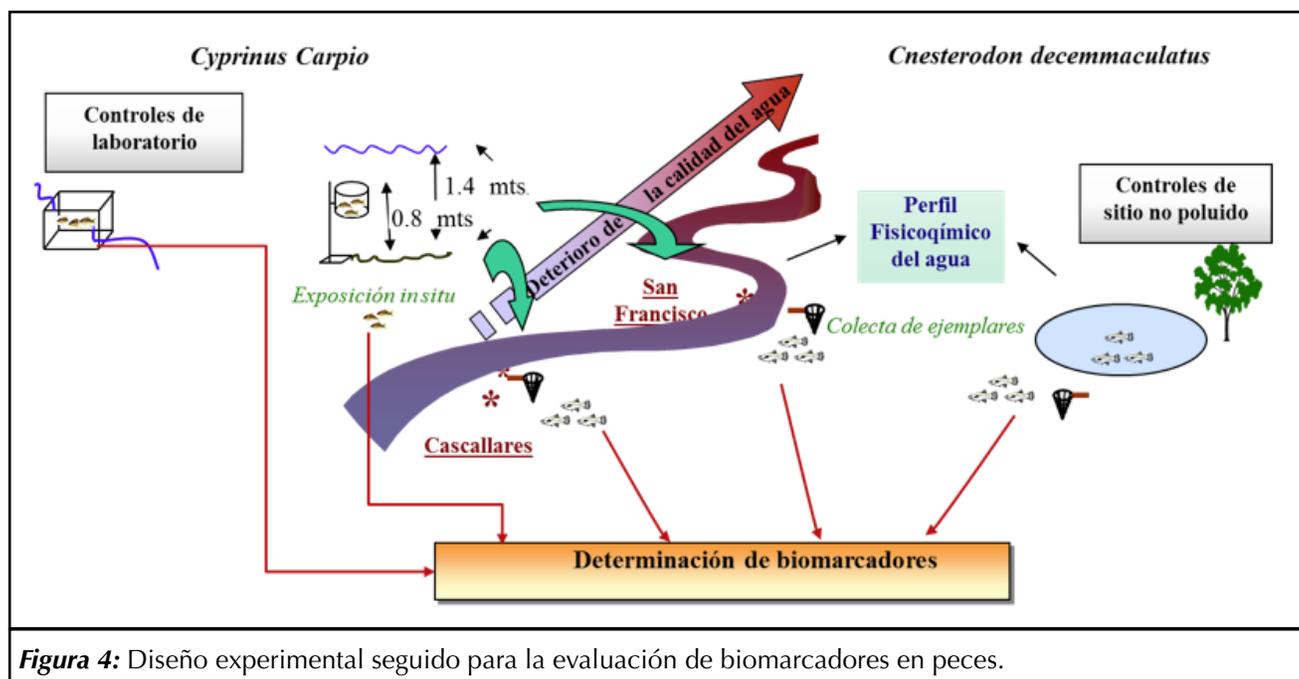


Figura 4: Diseño experimental seguido para la evaluación de biomarcadores en peces.

pecie recolectados en un cuerpo de agua no contaminado localizado en el *campus* de la Universidad Nacional de Luján, al que denominamos estanque/ control.

Simultáneamente a la extracción de los peces, se tomaron muestras de agua superficial (río y estanque) para su caracterización fisicoquímica. Los peces obtenidos en Cas, SF y estanque se transportaron al laboratorio, para su procesamiento. Se calculó el factor de condición (índice morfométrico que es aceptado como un indicador cuantitativo del estado de

salud general de los peces), el índice hepatosomático (IHS); indicador de estado de deterioro del funcionamiento hepático) y se extrajeron las branquias, el cerebro y el hígado para la determinación de actividades enzimáticas utilizadas como biomarcadores: acetilcolinesterasa cerebral (AChE); aminotransferasas hepáticas (AlaAT y AspAT) y  $(\text{Na}^+, \text{K}^+)$ - y  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPasas branquiales.

Del análisis de los parámetros fisicoquímicos del agua (Tabla 2) se observó un deterioro de la calidad del agua del río de ambas localida-

des (Cas y SF), en relación con la del estanque: algunos de los parámetros evaluados en el río estuvieron presentes en concentraciones superiores a los máximos permitidos por la legislación vigente (especialmente el amonio, fosfatos, fenoles y DQO). El agua de SF presentó los valores más desfavorables y también fue notorio el descenso del contenido de oxígeno disuelto, siendo el agua de Cas la que presentó menores tenores a consecuencia de una profusa y continua "cobertura" de vegetación flotante, al momento de efectuar el muestreo.

**Tabla 2:** Parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua tomadas al capturar adultos de *Cnesterodon decemmaculatus* del río Reconquista en Cascallares, San Francisco y en un estanque libre de contaminación ubicado en el campo de la Universidad (Controles).

	Cascallares	San Francisco	Estanque	MPQ
Temperatura (°C)	23.0	25.3	23.2	
pH	8.2	7.9	8.7	
Alcalinidad mM $\text{CaCO}_3$	9.2	10.1	7.7	
Dureza mM $\text{CaCO}_3$	1.0	1.2	1.1	
O.D. $\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$	0.7	4.5	8.2	
Conductividad $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$	1146	1129	753	
Amonio $\text{mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$	<0.8	13.1	<0.8	1.13
Nitritos $\text{mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$	0.06	0.08	0.04	0.02
Cloruros $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	79	59	21	
DQO $\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$	50	81	<10	
Fosfatos $\text{mg PO}_4^{3-} \cdot \text{L}^{-1}$	2.4	11.2	<0.1	
Fenoles $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.60	0.45	<0.1	0.01
<b>Metales pesados ppb</b>				
Cadmio	2.2	<1.4	<1	2.0
Cromo	6.8	4.5	<2	2.0
Cobre	3.5	2.8	<1	0.8
Plomo	6.9	7.5	<5	2.0
Zinc	61.8	92.8	90	30.0
<b>Insecticidas ppb</b>				
organofosforados	n.d.	n.d.	n.d.	
organoclorados	n.d.	n.d.	n.d.	

n.d.: no detectado; MPQ: Máximas cantidades permitidas por la Ley 24051 para la protección de la vida de agua dulce. Pesticidas rastreados: a) Insecticidas organoclorados:  $\alpha, \beta$  y  $\gamma$  HCH, aldrin, endrin, heptacloro, epoxidoheptacloro., op'ypp'DDE,  $\alpha$  y  $\gamma$ clordano, endosulfan II, op' y pp'DDT, dieldrin; b) Insecticidas organofosforados: etil y metilparation, fenitrotion, clorpirifos.

Los biomarcadores medidos (Tabla 3) permitieron concluir que: a) la deficiente calidad del agua de Cascallares determinó efectos adversos a nivel branquial y hepático, mientras que en San Francisco el elevado deterioro ambiental se extendió a la actividad de la AChE cerebral. De esta forma, se observó una correspondencia entre la severidad de los efectos y la existencia

de estrés ambiental; b) entre los parámetros evaluados, las actividades de la  $Mg^{2+}$ -ATPasa, AChE y AlaAT fueron los que evidenciaron mayor sensibilidad de respuesta. La evaluación de los parámetros marcadores en esta especie nativa demostró ser una metodología experimental apropiada y una herramienta útil en la evaluación ecotoxicológica de cuerpos de agua. La información

detallada referente a estos resultados puede ser consultada en de la Torre y col. (2005). Merece tenerse en cuenta que la respuesta toxicológica evaluada en esta especie nativa del río señala que el agua en Cas resulta perjudicial, demostrando por un lado que aún aguas arriba el río Reconquista provoca efectos tóxicos sobre su biota, evidenciables mediante el uso de biomarcadores de

**Tabla 3:** Biomarcadores medidos en branquias, cerebro e hígado, contenido de proteínas de tejidos, índice hepatosomático y factor de condición de adultos de *Cnesterodon decemmaculatus* capturados en el río Reconquista.

Parámetros	Cas	SF	Controles
<b>Branquias</b>			
(Na <sup>+</sup> K <sup>+</sup> )-ATPasa	4.7 ± 1.4 (5)	4.7 ± 1.0 (5)	6.5 ± 0.8 (5)
Mg <sup>++</sup> -ATPasa	22.4 ± 1.4 * (5)	24.4 ± 1.8 * (5)	37.6 ± 1.9 (5)
<b>Cerebro</b>			
AChE	273 ± 14 (10)	249 ± 15 * (10)	306 ± 13 (9)
Proteínas	45.9 ± 3.9 (10)	55.3 ± 7.7 * (10)	36.1 ± 2.0 (9)
<b>Hígado</b>			
AspAT	2090 ± 153 (9)	1485 ± 136 # (9)	1734 ± 97 (10)
AlaAT	1586 ± 174 * (9)	1979 ± 222 * (9)	2663 ± 215 (10)
AspAT/AlaAT	1.49 ± 0.24 * (9)	0.84 ± 0.12 # (9)	0.69 ± 0.04 (10)
AspAT 100 g <sup>-1</sup> p.c.	537 ± 94 (9)	749 ± 61 (9)	512 ± 68 (10)
AlaAT 100 g <sup>-1</sup> p.c.	379 ± 52 * (9)	1060 ± 173 # (9)	767 ± 110 (10)
<b>Índice Hepatosomático</b>	1.4 ± 0.3 (9)	2.5 ± 0.4 # (9)	1.7 ± 0.2 (10)
<b>Factor de condición</b>	1.15 ± 0.07 (10)	1.04 ± 0.05 * (10)	1.16 ± 0.02 (10)

**Control**, controles en estanque artificial; **Cas**, peces recolectados *in situ* en Cascallares; **SF**, peces recolectados *in situ* en San Francisco. Los datos se expresan como medias ± ESM; número de muestras en paréntesis. ATPasas branquiales en  $\mu\text{mol Pi. min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$  (*pool* de 2 individuos); AChE cerebral en  $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteínas}^{-1}$ , AspATy AlaAT hepáticas en unidades Karmen.  $\text{mg}^{-1} \text{ proteína}$  y por 100 g peso corporal  $\times 10^3$ . Las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre grupos están indicadas según: (\*), Cas vs Controles y SF1 vs Controles; (#): Cas vs SF1.

efecto temprano, no así con ensayos agudos de letalidad. Por otra parte, se pudo comprobar que algunos de estos biomarcadores muestran capacidad de recuperación, cuando los animales se transfieren a un sitio control: la evaluación del efecto de recuperación de los parámetros biomarcadores de *C. decemmaculatus* tanto en peces mantenidos en condiciones controladas de laboratorio como en aquellos confinados en jaulas, en ensayos *in situ*, constituyó el primer acercamiento documentado de este tipo realizado en aguas continentales periurbanas contaminadas de nuestro país (de la Torre, 2001).

Con juveniles de *C. carpio* se realizaron ensayos de exposición en jaulas (Figura 4) que fueron sumergidas en las localidades de Cas y SF entre 10 (SF) y 30 días (Cas) con controles de laboratorio. Los animales confinados en SF no lograron sobrevivir en ningún caso. Los resultados de los parámetros biomarcadores evaluados en Cas vs controles de laboratorio se muestran en la Tabla 4. Para esta especie también se detectaron efectos sobre la actividad branquial y cerebral, con resultados relativamente comparables a los obtenidos con *C. decemmaculatus*.

Señalamos, por último, que este ensayo es históricamente el primero de su tipo que se llevó a cabo en el río Reconquista. La información detallada se encuentra también publicada (de la Torre et al 2000).

### ■ EVALUACIÓN ECOTOXICOLÓGICA DE SEDIMENTOS

La sedimentación es un proceso importante de remoción de contaminantes de la columna de agua, que acumula xenobióticos en cantidades significativas. El sedimento contaminado puede definirse como aquel que contiene sustancias químicas en exceso con respecto a criterios geoquímicos y/o toxicológicos de calidad. Los poluentes pueden distribuirse sobre el sedimento, en el agua asociada a las partículas (agua intersticial o de poro), en la capa de agua asociada al sedimento y en la comunidad bentónica. Procesos naturales de remoción y redistribución de los sedimentos, como los vientos, ondas y corrientes, así como la remoción mecánica por dragado, provocan su resuspensión en la columna de agua y la dispersión de los tóxicos retenidos en ellos incrementando su biodisponibilidad y siendo, por lo tanto, un riesgo para toda la biota acuática.

Históricamente, la caracterización ecotoxicológica de los sedimentos se determinó evaluando en ellos los niveles de los contaminantes considerados como prioritarios, sin tener en cuenta, otros factores tales como posibles interacciones, biodisponibilidad, resuspensión o impacto sobre la estructura y funcionamiento de las comunidades asociadas con ellos. Las concentraciones de compuestos químicos en los sedimentos pueden ser muy elevadas, pero no tienen una relación directa con la biodisponibilidad. Un contaminante puede presentar efectos tóxicos sólo si se encuentra en una forma biodisponible y el compuesto puede incorporarse a la célula del animal o influir en el proceso normal del organismo. En este sentido los bioensayos con sedimentos representan una herramienta insustituible.

En relación con la evaluación ecotoxicológica de sedimentos de la cuenca del río Reconquista, luego de un periodo de indagación se seleccionó como sitio de muestreo la zona de la desembocadura del arroyo La Choza en el lago San Francisco, Represa Roggero (Figura 1). El arroyo La Choza proporciona la mayor carga contaminante al cauce del río. Ello es principalmente

**Tabla 4:** Parámetros bioquímicos, contenido de proteínas de branquias y cerebro y factor de condición de juveniles de *Cyprinus carpio* mantenidos durante 30 días en jaulas sumergidas en Cascallares.

Parámetros	Cas1	Cas2	Cas3	Controles
<b>Branquias</b>				
(Na <sup>+</sup> ,K <sup>+</sup> )-ATPasa	7.6 ± 0.4 * (9)	8.3 ± 1.3 (5)	7.8 ± 0.6 (9)	9.8 ± 0.9 (9)
Mg <sup>++</sup> -ATPasa	28.9 ± 1.5 (8)	45.9 ± 2.5 * (5)	31.1 ± 1.1 * (8)	25.7 ± 1.9 (9)
<b>Cerebro</b>				
AChE	s.m.	390 ± 13 (9)	320 ± 9 * (10)	368 ± 13 (8)
<b>Factor de condición</b>	1.04 ± 0.04 (9)	1.12 ± 0.02 (9)	1.20 ± 0.04 (10)	1.12 ± 0.03 (9)

**Cas1, Cas2, Cas3**, peces mantenidos en Cascallares; **Controles**, peces en agua potable de red en laboratorio. Los datos se expresan como medias ± ESM; número de muestras en paréntesis. ATPasas branquiales en  $\mu\text{moles Pi} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$ ; AChE cerebral en  $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$ . Las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) respecto a Controles se indican con un asterisco.

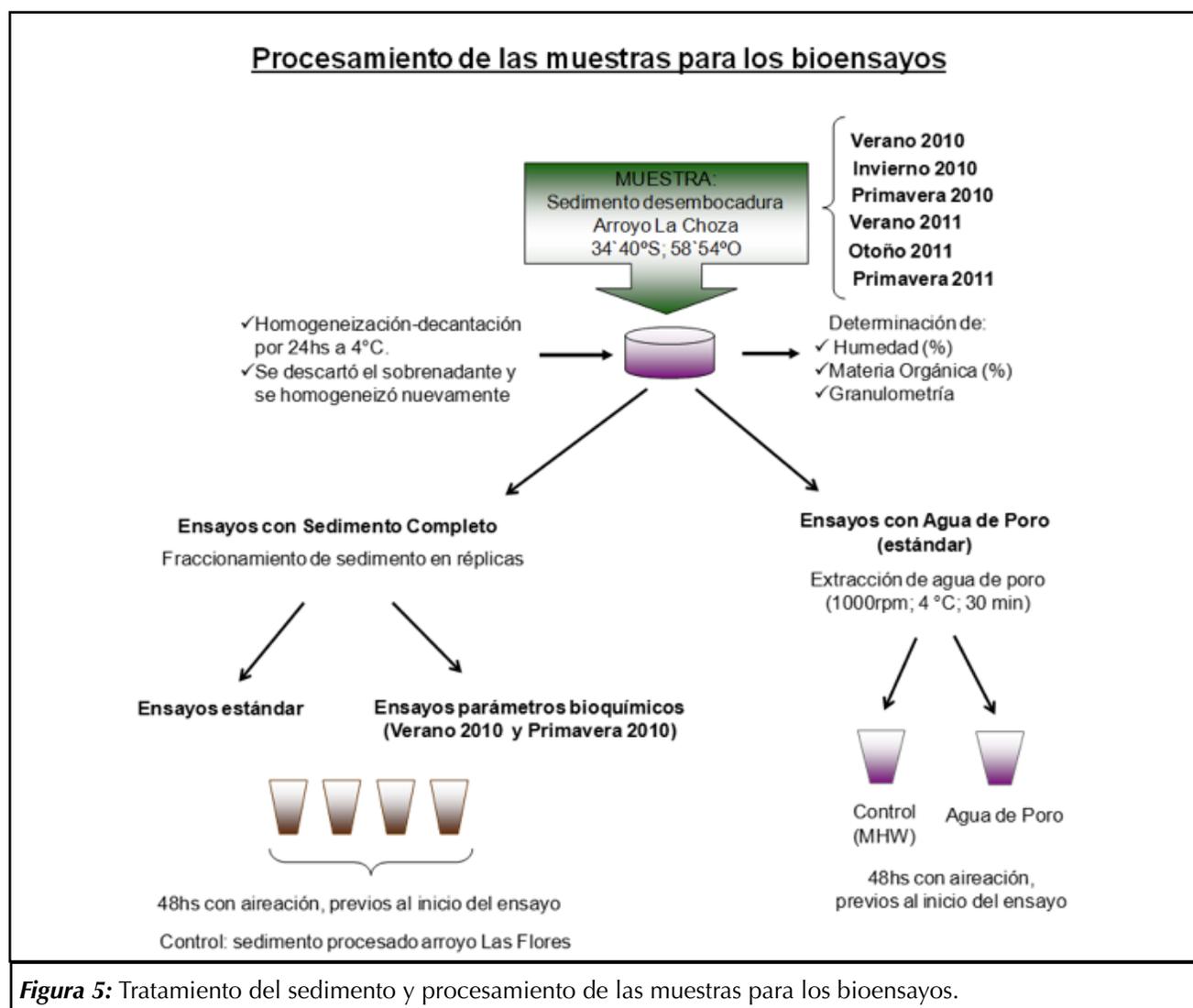
una consecuencia de la descarga de aguas residuales desde una planta de tratamiento, como también desde un pequeño parque industrial ubicado cerca de la desembocadura del arroyo. En este sitio se emplazan, entre otras, una industria agroquímica y un establecimiento de faena de aves de corral, que descargan de forma continua efluentes en el arroyo. Los estudios en este sitio mostraron elevados valores de DBO5 y de sólidos en suspensión indicando contaminación orgánica (Rigacci y col., 2013).

Como parte de un estudio más amplio, se tomaron en este sitio muestras estacionales de sedimentos durante dos años, las que fueron

procesadas para la realización de ensayos estandarizados de sobrevivencia y crecimiento, utilizando como organismo prueba al anfípodo *H. curvispina* y como medio de exposición sedimentos completos y el agua de poro proveniente de los mismos. Además, y a fin de establecer posibles respuestas de efecto temprano, se evaluó el efecto de la exposición a sedimento completo sobre algunos biomarcadores. En éstos el sedimento control fue el proveniente del arroyo Las Flores, perteneciente a la cuenca del río Luján previamente caracterizado apto para su uso control. Además, los cultivos de anfípodos de los que se extrajeron los animales de experimentación provinieron de la población de

dicho arroyo. En las figuras 5, 6 y 7 se muestran de manera esquemática el procesamiento de las muestras y los diseños de ensayo seguidos. A los puntos finales estándar: sobrevivencia y crecimiento (como peso corporal/biomasa y longitud) se agregó un punto final nuevo: índice de masa corporal (IMC). Como biomarcadores se utilizaron parámetros de estrés oxidativo (actividad de las enzimas catalasa y superóxido dismutasa y nivel de lipoperoxidación) y actividad del sistema de transporte de electrones (ETS).

Los resultados de los ensayos estándar mostraron que la exposición a sedimentos del arroyo La Choza no afectó significativamente la so-



**Figura 5:** Tratamiento del sedimento y procesamiento de las muestras para los bioensayos.

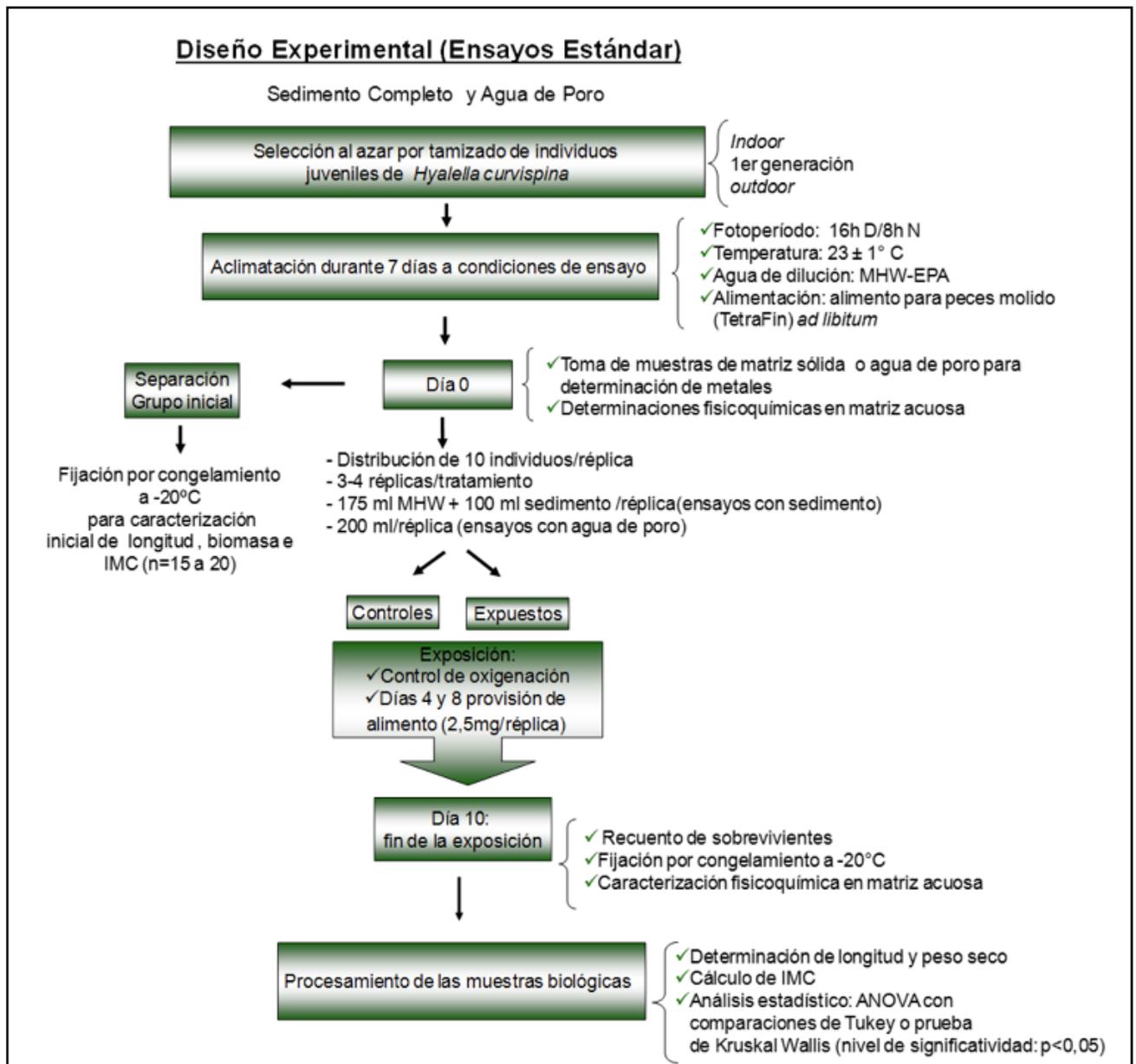
brevivencia de *H. curvispina* en relación con los controles en ningún caso, pero los parámetros de crecimiento sí se vieron afectados, siendo el IMC el mejor parámetro indicador de efecto.

En relación con los experimentos con agua de poro, en ninguno de los ensayos realizados se observó mortalidad significativa en relación al control y, a diferencia de los resultados obtenidos en los experimentos realizados con sedimento completo, tampoco se registraron efectos so-

bre los parámetros de crecimiento. Debe considerarse que los ensayos de toxicidad con agua de poro no evalúan la toxicidad causada por la ingesta de sedimentos, que es una ruta de exposición importante para algunos organismos. Las pruebas de toxicidad con sedimento completo son ambientalmente más realistas que las de agua de poro, dado que la estructura de los sedimentos es relativamente mantenida y todas las rutas de exposición, incluidas el agua sobrenadante, el agua de poro, las partículas de sedimento y el alimen-

to están presentes. Nuestros resultados son coincidentes con estas apreciaciones. La información detallada referente a este trabajo se encuentra en Giusto (2014).

En la Tabla 6 se muestran los resultados de los biomarcadores medidos en dos de los ensayos estacionales. La lectura de la misma permite apreciar que la evaluación de biomarcadores en los anfípodos expuestos a las muestras de sedimento que no produjeron efecto evidente sobre sobrevivencia y crecimiento,

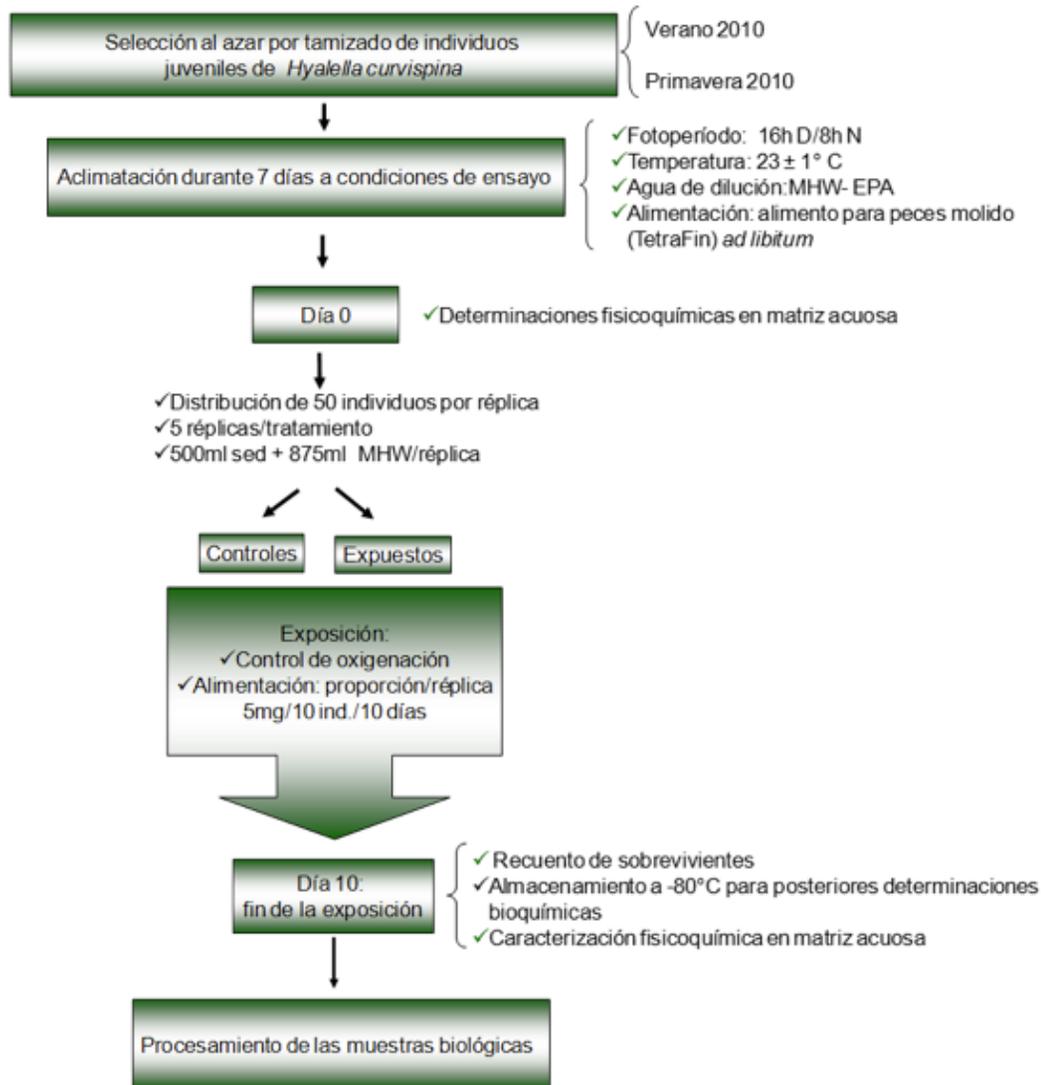


**Figura 6:** Descripción del diseño experimental empleado en los ensayos estándar.

sí produjeron daño oxidativo y un incremento significativo en la actividad antioxidante, así como una reducción en la actividad de ETS, demostrándose así la utilidad de estos parámetros como indicadores de alerta temprano de efecto. La información detallada de estos resultados se encuentra publicada en Giusto y

### Diseño Experimental (Ensayos Biomarcadores)

Para ensayos con Sedimento Completo, USEPA 2000 con modificaciones



-Cuatro individuos de cada réplica fueron utilizados para la cuantificación de ETS. Las determinaciones fueron realizadas sobre animales individuales.

-Los individuos remanentes fueron utilizados para la determinación de:

- proteínas totales;
- niveles de lipoperoxidación (TBARS);
- actividad de SOD y CAT

Las determinaciones fueron realizadas en *pools* de homogenatos totales.

Análisis estadístico: test de Students (nivel de significatividad:  $p < 0,05$ )

**Figura 7:** Descripción del diseño experimental empleado en los ensayos de biomarcadores.

**Tabla 5.** Puntos finales medidos en los ensayos de biomarcadores a tiempo final de exposición. Valores expresados como media  $\pm$  DE, n: número de determinaciones. (\*) diferencias significativas respecto del control ( $p < 0,05$ ).

<b>Bioensayo Verano 2010</b>				
	<b>Control</b>	<b>La Choza</b>	<b>La Choza/Control</b>	<b>n</b>
<b>CAT</b> ( $\mu\text{molH}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg Prot}$ )	29,64 $\pm$ 4,15	47,57 $\pm$ 5,61(*)	+1,6	5
<b>SOD</b> (U/mg Prot)	15,37 $\pm$ 1,45	149,32 $\pm$ 53,39(*)	+9,7	5
<b>TBARS</b> (nmol/mg de Prot)	6,14 $\pm$ 0,55	19,68 $\pm$ 2,89(*)	+3,2	5
<b>ETS</b> ( $\mu\text{l de O}_2/\text{mgww}/\text{h}$ )	2,37 $\pm$ 0,08	1,56 $\pm$ 0,60(*)	0,65	20
<b>Bioensayo Primavera 2010</b>				
	<b>Control</b>	<b>La Choza</b>	<b>La Choza/Control</b>	<b>n</b>
<b>CAT</b> ( $\mu\text{molH}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg Prot}$ )	36,30 $\pm$ 0,77	51,21 $\pm$ 1,11(*)	+1,4	5
<b>SOD</b> (U/mg Prot)	6,69 $\pm$ 0,20	35,23 $\pm$ 1,85(*)	+5,3	5
<b>TBARS</b> (nmol/mg Prot)	5,09 $\pm$ 0,25	17,22 $\pm$ 0,39(*)	+ 3,4	5
<b>ETS</b> ( $\mu\text{l de O}_2/\text{mgww}/\text{h}$ )	1,26 $\pm$ 0,48	0,89 $\pm$ 0,49(*)	0,7	20

col. (2014).

## ■ CONSIDERACIONES FINALES

La evaluación ecotoxicológica de un cuerpo de agua debe indefectiblemente ser abordada interdisciplinariamente. Un río no es sólo el agua y su cauce sino también, y de manera indivisible, las comunidades que lo habitan. El comportamiento de los distintos contaminantes depende en parte de las particularidades de los ecosistemas que los reciben. Por ello la mera cuantificación de contaminantes o índices de calidad de aguas aporta solo información parcial, si bien muy valiosa. Por otra parte, la estimación de respuestas biológicas como consecuencia de la exposición a agua receptoras o sedimentos carece de valor si no es asociable a la evaluación fisicoquímica de las matrices de ensayo.

La mejor aproximación de estudio en lo referente al impacto sobre

la biota es mediante el uso de especies nativas, ya que éstas tienen la potencialidad de representar de manera más realista los posibles efectos de la polución sobre sus ambientes. En este sentido resulta un desafío y enorme trabajo, identificar y validar para su uso en bioensayos de monitoreo especies nativas representativas.

La selección de los puntos finales más adecuados depende sustancialmente de los objetivos del estudio en cuestión. Si bien y de manera ideal los parámetros de efecto temprano son preferibles, su determinación requiere de una mayor especialización del personal involucrado en el estudio y son experimental e instrumentalmente más costosos que los ensayos estandarizados. Por ello una vía razonable es un abordaje inicial de evaluación de efectos agudos, incorporando evaluación de efectos tempranos mediante biomarcadores en función de los resultados obteni-

dos en esa primera etapa. En nuestra experiencia con el río Reconquista ambos abordajes fueron complementarios tanto en aguas como en sedimento. La evaluación de distintos biomarcadores bioquímicos permitió detectar daño por exposición a muestras de agua en peces provenientes de la cuenca alta del río estableciéndose así de manera cabal la carencia de sitios libres de polución, no detectables por los ensayos estandarizados para monitoreo biológico. De igual modo la evaluación de efecto mediante biomarcadores bioquímicos en anfípodos expuestos a sedimento del río, indicó deterioro del estado de salud de los organismos aún en ausencia de efecto agudos o crónicos.

## ■ GLOSARIO

**Actividad del sistema de transporte de electrones (ETS):** Es un parámetro bioquímico representativo del funcionamiento del sistema

multienzimático de la membrana interna mitocondrial equiparable a producción de energía aeróbica

**Agua de poro:** la obtenida por centrifugación del sedimento completo y que representa la fracción de agua intersticial.

**Aguas receptoras:** un río, un lago, un océano, una corriente de agua u otro curso de agua, dentro del cual se descargan aguas residuales o efluentes tratados.

**ASTM:** American Society for Testing Materials

**Bentos:** Conjunto de organismos que viven asociados al fondo de los sistemas acuáticos: algas, invertebrados, protozoos, bacterias y hongos

**Biodisponibilidad:** es un concepto farmacocinético que alude a la fracción y la velocidad a la cual la dosis o concentración de un tóxico alcanza y que representa la fracción biodisponible del tóxico

**Control positivo de referencia:** se trata de sustancias puras de respuesta tóxica conocida y establecida en un rango preciso, una especie prueba particular y condiciones experimentales preestablecidas

**Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5):** es un parámetro que mide la cantidad de oxígeno consumido al degradar la materia susceptible de ser consumida u oxidada por medios biológicos que contiene una muestra líquida, disuelta o en suspensión. Se utiliza para medir el grado de contaminación y se mide transcurridos cinco días de reacción.

**EC:** Agencia de Protección Ambiental de Canadá.

**Efluentes:** Término empleado para nombrar a las aguas servidas con

desechos sólidos, líquidos o gaseosos que son emitidos por viviendas y/o industrias a los cursos de agua; o que se incorporan a estas por el escurrimiento de terrenos causado por las lluvias.

**Especie validada:** especies recomendadas por organismos de normatización y protocolizadas para su uso en bioensayos sobre la base de su caracterización toxicológica.

**Especies centinelas:** especies que sirven para demostrar la presencia de contaminantes en el medio en el que viven y el grado de exposición.

**Estrés oxidativo:** es un desbalance del estado normal redox de las células causado por un desequilibrio entre la producción de oxígeno reactivo y la capacidad de un sistema biológico para detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. Consecuentemente pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y el ADN.

**IRAM:** Instituto Argentino de Normalización y Certificación

**ISO:** Organización Internacional de Normalización

**Macrófitas:** plantas acuáticas vasculares,

**Necton:** Organismos capaces de nadar activamente y desplazarse contrarrestando los movimientos del agua: invertebrados y peces

**Niveles guía:** condición que debería observar un parámetro de calidad en relación con un destino asignado al agua ambiente, basada en el conocimiento científico. Los criterios varían en función del destino,

estableciéndose diferentes valores en función de uso del recurso agua: agua de bebida, riego, recreación, protección de biota acuática

**OECD:** Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos

**Perifiton:** Organismos que viven adheridos a los sustratos sumergidos (vivos o inertes): algas, pequeños invertebrados y ciliados, bacterias y hongos

**Plancton:** Organismos suspendidos en el seno del agua y cuyos movimientos, si poseen, resultan muy débiles para contrarrestar el efecto de las corrientes del agua. Algas, pequeños invertebrados, protozoarios, bacterias, etc.

**Puntos finales:** parámetro biológico seleccionado y cuantificable a fin de estimar un efecto particular en un ensayo

**Sedimento completo:** se trata del sedimento natural muestreado sin pesamiento posterior.

**Sedimentos** material sólido acumulado sobre la superficie terrestre. La sedimentación ocurre cuando un material sólido es transportado por una corriente de agua y se posa en el fondo del río, embalse, etc. Las corrientes de agua tienen la capacidad de transportar materia sólida en suspensión y de generar sedimentos por sus propias características o a través de la erosión de los cauces.

**Unidades de toxicidad (UT):** valor arbitrario que vinculan los valores de CL50s o con la toxicidad de una muestra en particular. Las unidades de toxicidad agudas (UTAs), en particular, son expresiones de toxicidad aplicadas tanto en la evaluación de efluentes y aguas receptoras así como para estudios con y se definen

como 100/CL50 expresada como porcentaje de dilución de la muestra.

**USEPA:** Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos

**Xenobiótico:** sustancia química administrada en exceso desde el exterior a un organismo.

## ■ REFERENCIAS

- Basilico GO. (2014). Evaluación del impacto de ingresos puntuales de contaminantes en arroyos de llanura y pautas para su remediación: Tesis Doctoral. Universidad Nacional de General Sarmiento.
- Bervoets L, Baillieul M, Blust R, Verheyen R. (1996). Evaluation of effluent toxicity and ambient toxicity in a polluted lowland river. *Environ. Pollut.* 91: 333-341.
- Boudou A, Ribeyre F. (1997). Aquatic ecotoxicology: from the ecosystem to the cellular and molecular levels. *Environ. Health Perspect.* 105 Suppl, 21-35.
- de la Torre FR. (2001). Estudio integrado de la contaminación acuática mediante bioensayos y parámetros fisiológicos y bioquímicos indicadores de estrés ambiental. Tesis Doctoral Universidad de Buenos Aires (FCEN-UBA).
- de la Torre FR, Ferrari L, Salibián A. (2005). Biomarkers of a native fish species (*Cnesterodon decemmaculatus*): application to the water toxicity assessment of a peri-urban polluted river of Argentina. *Chemosphere* 59: 577-583.
- de la Torre FR, Ferrari L, Salibián A. (2000). Long-term in situ water toxicity bioassays in the Reconquista river (Argentina) with *Cyprinus carpio* as sentinel organism. *Water Air Soil Pollut.* 121: 205-215.
- de La Torre FR., Demichelis SO, Ferrari, L, Salibián A. (1997). Toxicity of Reconquista River Water Bioassays with juvenile *Cnesterodon decemmaculatus* Bull. *Environm. Contam. Toxicol.* 58: 558-565.
- Di Marzio WD, Sáenz M, Alberdi J, Tortorelli M, Galassi S. (2005). Risk assessment of domestic and industrial effluents unloaded into a fresh water environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 61: 380-391.
- Di Marzio WD, Saenz ME, Alberdi JL, Tortorelli MC. (1999). Assessment of the toxicity of stabilized sludges using *Hyalella curvispina* (Amphipoda) bioassay. *Environ. Contam. Toxicol.* 63: 654-659.
- Doyle S, Momo FR. (2009). Effect of body size and temperature on the metabolic rate of *Hyalella curvispina* (Amphipoda). *Crustaceana.* 82: 1423-1439.
- Eissa B. (2009). Biomarcadores comportamentales, fisiológicos y morfológicos de exposición al Cadmio en peces pampeanos. Tesis Doctoral Universidad de Buenos Aires (FCEN-UBA).
- Eissa B, Salibián A, Ferrari L, Porta P, Borgnia M. (2003). Evaluación toxicológica no invasiva del cadmio: modificaciones de biomarcadores conductuales en *Cyprinus carpio*. *Biol. Acuática* 20: 56-62.
- Ferrari L, de la Torre FR., Demichelis SO, García ME, Salibián A. (2005). Ecotoxicological assessment for receiving waters with the premetamorphic tadpoles acute assay. *Chemosphere* 59: 567-575.
- Ferrari L, Demichelis SO, García ME, de la Torre FR, Salibian A. (1997). Premetamorphic anuran tadpoles as test organism for an acute Aquatic toxicity assay. *Environ. Toxicol. Water Quality* 12: 118-121.
- Finney DJ. (1978). Statistical method in biological assay, 3ra ed. London: Griffin
- García ME, Rodríguez Capítulo A, Ferrari L. (2012). Age differential response of *Hyalella curvispina* to a cadmium pulse: influence of sediment particle size. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 80: 314-320.
- García ME, Rodríguez-Capítulo A, Ferrari L. (2010). Age-related differential sensitivity to cadmium in *Hyalella curvispina* (Amphipoda) and implications in ecotoxicity studies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73: 771-778.
- García ME. (2009). Estudio del efecto de la contaminación sobre invertebrados del complejo zoobentónico en arroyos de la llanura pampeana. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata, Bs.As., Argentina. 322pp.
- Giusto A, Salibian A, Ferrari L. (2014). Biomonitoring toxicity of natural sediments using juvenile *Hyalella curvispina* (Amphipod) as test species: evaluation of early effect endpoints. *Ecotoxicology* 23: 293-303.
- Giusto A. (2014). Efectos de la Contaminación por Metales Pesados sobre Anfípodos de Agua Dulce y su Aplicación en Estudios de Toxicidad de Sedimentos. Tesis Doctoral Facultad de Ciencias

- Exactas y Naturales- UBA.
- Herkovits, J, Pérez-Coll CS. (1999). "Bioensayos para test de toxicidad con embriones de anfibio ("ANFITOX")." Ingeniería Sanitaria y Ambiental vol. 42 (parte 1) y vol. 43 (parte 2) pp. 24-30 (parte 21) y pp. 50-55 (parte 22).
- Informe de la Defensoría del Pueblo de la Nación (2007). Cuenca del río Reconquista 1° Parte. Informe Especial.
- IRAM 29112/2008 (Instituto Argentino de Normalización y Certificación) (2008) Calidad ambiental- Calidad del agua. Determinación de la toxicidad letal aguda de sustancias en peces de agua dulce. Método semiestático. Norma N° 29112/2007.
- Jergentz S, Pessacq P, Mugni H, Bonetto C, Schulz R. (2004). Linking in situ bioassays population dynamics of macroinvertebrates to assess agricultural contaminations in streams of the Argentine pampa. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 59: 133-141.
- Lagadic L, Caquet T, Amiard JC., Ramade F. (1997) *Biomarqueurs en Ecotoxicologie. Aspects fondamentaux.* Masson, Paris.
- Maltby L, Clayton SA, Yu H, McLoughlin N, Wood RM, Yin D. (2000). Using single-species toxicity tests, community-level responses, and toxicity identification evaluations to investigate effluent impacts. *Environ. Toxicol. Chem.* 19: 151-157.
- Mardirosian M. (2014). *Ecotoxicología del arsénico y mecanismos de acción en el desarrollo del anfibio Rhinella arenarum.* Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UBA.
- Mastrángelo M, Ferrari L. (2013). *Cnesterodon decemmaculatus* Juveniles as Test Organisms in Toxicity Assessment: Cadmium Case. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 91: 49-54.
- Mugni H, Ronco A, Bonetto C. (2011). Insecticide toxicity to *Hyalella curvispina* in runoff and stream water within a soybean farm (Buenos Aires, Argentina). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74: 350-54.
- Peluso L, Giusto A, Bulus Rosini GD, Ferrari L, Salibián A, Ronco AE. (2011). *Hyalella curvispina* (amphipoda) as a test organism in laboratory toxicity testing of environmental samples. *Fresen. Environ. Bull.* 20: 372-376.
- Rand MG (Ed). (1995). *Fundamentals of Aquatic Toxicology.* Washington DC: Taylor & Francis, pp. 71-102.
- Rigacci LN, Giorgi ADN, Vilches CS, Ossana NA, Salibián A. (2013). Effect of a reservoir in the water quality of the Reconquista River, Buenos Aires, Argentina. *Environ. Monit. Assess.* 185: 9161-9168.
- Sadañowski I. (2003). El problema de las inundaciones en la cuenca del río Reconquista: la represa Ing. Carlos F. Roggero y las funciones ecológicas. Tesis de Licenciatura en Ecología Urbana. Universidad Nacional de General Sarmiento.
- Salibián A. (2006). Ecotoxicological assessment of the highly polluted Reconquista River of Argentina. In: Ware GW (Editor). *Rev Environ Contam Toxicol.* 185: 35-65.
- Somma A, Mastrángelo M, Ferrari L. (2011a). Manual de producción de *Cnesterodon decemmaculatus* en laboratorio, 1a ed. Utopías, p36, e-book, ISBN 978-987-1529-87-2
- Somma L, Giusto A, Ferrari L. (2011b). Manual de producción de *Hyalella curvispina* en laboratorio. 1° ed. Utopías, 2011 25 p. + Ebook; 21x29 cm ISBN 978-987-1529-86.
- US EPA. (1991). *Technical Support Document for Water Quality-Based Toxic Control.*; Washington, DC, EPA/440/4-85-032.
- Vlaming V, Connor V, Di Giorgio C, Bailey HC, Deanovic LA, Hinton DE. (2000). Application of whole effluent toxicity test procedures to ambient water quality assessment. *Environ. Toxicol. Chem.* 19: 42-62.

## El 98 por ciento de los doctores formados por el CONICET tiene empleo

Según un informe dado a conocer por este organismo científico acerca de la inserción de doctores, sólo un 1 por ciento de estos ex-becarios no tiene trabajo o no poseen ocupación declarada y un 10 por ciento posee remuneraciones inferiores a un estipendio de una beca doctoral.

Asimismo, proyecta que el 89 por ciento de los encuestados tiene una situación favorable en su actividad profesional, pero sobre todo asegura que más del 98 por ciento de los científicos salidos del CONICET consigue trabajo.

Los datos surgidos del estudio "Análisis de la inserción laboral de los ex-becarios Doctorales financiados por CONICET", realizado por la Gerencia de Recursos Humanos del organismo, involucró 934 casos sobre una población de 6.080 ex-becarios entre los años 1998 y el 2011.

Al respecto, en el mismo se considera que del número de ex-becarios consultados, el 52 por ciento (485 casos), continúa en el CONICET en la Carrera del Investigador Científico y Tecnológico.

De los que no ingresaron en el organismo pero trabajan en el país, sobre 341 casos, el 48 por ciento se encuentra empleado en universidades de gestión pública y un 5 por ciento en privadas; el 18 por ciento en empresas, un 6 por ciento en organismos de Ciencia y Técnica (CyT), un 12 por ciento en la gestión pública y el resto en instituciones y organismos del Estado.

En tanto, en el extranjero, sobre 94 casos, el 90 por ciento trabaja en universidades, el 7 por ciento en empresas y el 2 por ciento es autónomo.

El mismo informe traduce que la demanda del sector privado sobre la

incorporación de doctores no es aún la esperada, pero está creciendo. La inserción en el Estado, si se suma a las universidades nacionales y ministerios, se constituye en el mayor ámbito de actividad.

Frente a ello, a los fines de avanzar en la inserción en el ámbito publico-privado el CONICET realiza actividades políticas de articulación con otros organismos de CyT, es decir, universidades, empresas, a través de la Unión Industrial Argentina (UIA), y en particular con YPF que requiere personal altamente capacitado en diferentes áreas de investigación.

Desde el CONICET se espera que en la medida que la producción argentina requiera más innovación, crecerá la demanda de doctores. Para cuando llegue ese momento el país deberá tener los recursos humanos preparados para dar respuestas. Es por ello se piensa en doctores para el país y no solamente doctores para el CONICET.

Programa +VALOR.DOC

### Sumar doctores al desarrollo del país

*A través de esta iniciativa nacional, impulsada por el CONICET y organismos del Estado, se amplían las posibilidades de inserción laboral de profesionales con formación doctoral*

El programa +VALOR.DOC bajo el lema "Sumando Doctores al Desarrollo de la Argentina", busca vincular los recursos humanos con las necesidades y oportunidades de desarrollo del país y fomentar la incorporación de doctores a la estructura productiva, educativa, administrativa y de servicios.

A partir de una base de datos y herramientas informáticas, se aportan recursos humanos altamente calificados a la industria, los servicios y la gestión pública. Mediante una página Web, los doctores cargan sus curriculum vitae para que puedan contactarlos por perfil de formación y, de esta manera, generarse los vínculos necesarios.

Con el apoyo del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, este programa tiene como objetivo reforzar las capacidades científico-tecnológicas de las empresas, potenciar la gestión y complementar las acciones de vinculación entre el sector que promueve el conocimiento y el productivo.

+VALOR.DOC es una propuesta interinstitucional que promueve y facilita la inserción laboral de doctores que por sus conocimientos impactan positivamente en la sociedad.

Para conocer más sobre el programa [www.masVALORDoc.conicet.gov.ar](http://www.masVALORDoc.conicet.gov.ar).

