

USO DE CATEGORÍAS TOXICOLÓGICAS COMO HERRAMIENTA PARA LA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA DE DOS CUENCAS FLUVIALES DE UNA REGIÓN SEMIÁRIDA DE ARGENTINA

¹Ariana Rossen, ²M. Florencia Kronberg, ³Araceli Clavijo, ²Mariana Manetti, ⁴Aldana Moya, ⁶Daniel Calvo, ⁵Adriana Mariani, ⁵Rocio Hernández, ⁵Santa E. Salatino, ⁵José Morábito, ⁷Mario Rossi, ²Eliana Munariz

¹Laboratorio Experimental de Tecnologías Sustentables, Sugerencia Centro de Tecnología del Uso del Agua. Instituto Nacional del Agua, Au. Ezeiza – Cañuelas, tramo Jorge Newbery Km 1620, Ezeiza, B1804 Buenos Aires, Argentina arossen@ina.gov.ar

²Cátedra de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Avda. San Martín 4453, C1417DSE Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales, Universidad de Buenos Aires - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Avda. San Martín 4453, C1417DSE Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. kronberg@agro.uba.ar, mmanetti@agro.uba.ar; eliana.munariz@gmail.com

³Instituto de Investigaciones en Energía no Convencional, Universidad Nacional de Salta - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Avda. Bolivia 5150, A4408FVY Ciudad de Salta, Argentina. a.clavijo@agro.uba.ar

⁴Cátedra de Protección vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Avda. San Martín 4453, C1417DSE Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. amoya@agro.uba.ar

⁵Instituto Nacional del Agua. Belgrano Oeste 210, M5500FIF Mendoza, Argentina. amariani@ina.gov.ar; rhernandez@fca.uncu.edu.ar; titalatino@hotmail.com; jamorabito53@yahoo.com.ar

⁶Sugerencia de Servicio Hidrológicos, Instituto Nacional del Agua, Au. Ezeiza – Cañuelas, tramo Jorge Newbery Km 1620, Ezeiza, B1804 Buenos Aires, Argentina. dcalvo@ina.gov.ar

⁷Instituto de Investigaciones en Medicina Traslacional. Facultad de Ciencias médicas. Universidad Austral- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Av. Pte. Perón 1500, B1629AHJ, Pilar, Buenos Aires, Argentina. mrossi-conicet@austral.edu.ar

Introducción

Uno de los grandes desafíos de la gestión sostenible de los recursos hídricos es la provisión de agua suficiente en cantidad y calidad para los usos consuntivos y no consuntivos de la población, así como los caudales necesarios para mantener los servicios ecosistémicos. Para ello, las agencias ambientales deben establecer programas de control y monitoreo de los cursos de agua, como herramienta esencial para su caracterización fisicoquímica y bacteriológica. Sin embargo, dado que el entorno acuático recibe mezclas complejas de contaminantes, los análisis y metodologías disponibles deberían también evaluar el riesgo de los contaminantes biodisponibles y su interacción. Por esta razón, existe un interés creciente en el uso de pruebas toxicológicas y bioensayos en la evaluación de impacto ambiental de los cuerpos de agua. Sin embargo, la toma de decisiones regulatorias y de gestión basadas en estas pruebas requiere consolidar y acordar valores límite que diferencien entre calidad de agua aceptable y no aceptable en función de sus usos posibles, así como, la necesidad de evaluación y validación de métodos bioanalíticos en estudios de campo. En este marco, el objetivo de este trabajo fue la utilización de 3 bioensayos estandarizados con especies de diferentes niveles tróficos para la evaluación integrada de la calidad de agua de la cuenca del Río Tunuyán (CRT) y del Río Mendoza (CRM), correspondiente a una región semiárida en la prov. de Mendoza, Argentina (Morabito et al., 2011; Mariani et al., 2017).

Sitios de muestreo y metodología

En la Fig. 1 se presentan los sitios de monitoreo de CRT [en el tramo superior se encontraban Las Tunas (LT), Arroyo Yaucha (Y), Arroyo Aguanda (A) y Valle de Uco (VU), y en la cuenca inferior Costa Anzorena (CA), Dique Tiburcio Benegas (TB) y San Martín (SM)] y los sitios de CRM [en la cabecera del sistema se ubicaba la presa Cipoletti (RI), y corriente abajo, puntos ubicados en la red derivada de canales de riego (CI, CII, CIV y CV)]. CI ubicado aguas abajo de la ciudad de Mendoza, en el canal Guaymallén. Este canal entrega agua a otros canales: Jocolf (CII) y Tulumaya (CV). CII se ubica aguas abajo de la planta depuradora de Campo Espejo. CV, entrada del canal Pescara, colector de drenaje agrícola, efluentes urbanos e industriales. El sitio CIV derivado de RI, riega pequeños oasis de producción de frutas y recibe descargas de origen agrícola

(fertilizantes y fitosanitarios). Se realizaron 16 muestreos durante las campañas del 2015 al 2017. Las muestras fueron colectadas en la sección media del cauce; se transportaron, almacenaron y conservaron de acuerdo con los métodos estándar (SM 1060-C) (APHA, 2017).

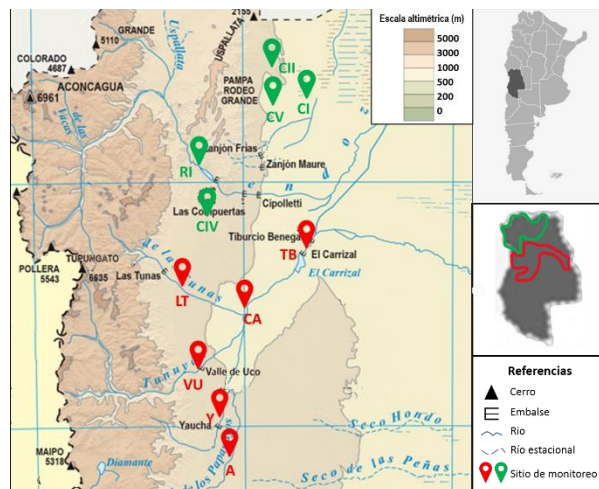


Figura 1: Localización de los sitios de monitoreo en CRT (puntos rojos) y CRM (puntos verdes). Mendoza, Argentina

El bioensayo de toxicidad aguda con el nematodo *Caenorhabditis elegans* se desarrolló según ISO (2010). Se incubaron 10 nematodos en el estadio larval L1 con las muestras de agua y *E. coli* como fuente de alimento. Los ensayos se realizaron en placas de cultivo de 24 pocillos y se incubaron durante 96 h a 20 °C. Se detuvo el crecimiento, se tiñeron con solución de Rosa Bengala (0,5 g/L) y se almacenaron a 4 °C hasta su procesamiento. Los individuos se fotografiaron con microscopio óptico (40X) y se determinó la longitud del cuerpo de cada nematodo.

Para el ensayo de toxicidad aguda con las semillas de lechuga *Lactuca sativa* se adaptó la técnica propuesta por Sobrero y Ronco (2004). Se colocaron papeles de filtro en cajas de Petri con 4 ml de muestra de agua y 17 semillas. Las placas se incubaron a 22 °C ± 2 durante 6 días (primeras 24 horas con luz y luego 5 días en oscuridad). Como control negativo se utilizó agua dura reconstituida. Al finalizar el ensayo se registró el

porcentaje de germinación, la elongación de la raíz y el tallo.

El bioensayo de toxicidad aguda con el alga unicelular *Pseudokirchneriella subcapitata* se realizó según OCDE (2011). Las exposiciones se efectuaron en viales de vidrio con 6 mL de muestra, 0,3 mL de medio de crecimiento y un inóculo de 5×10^5 células mL⁻¹. La incubación se realizó 72 h a 24 °C, 90 rpm, con luz blanca permanente ($25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). El crecimiento de algas se determinó por conteo microscópico de células utilizando una cámara de Neubauer.

Todas las determinaciones se realizaron por cuadruplicado y se expresaron como crecimiento relativo respecto a un control. Para caracterizar la magnitud del efecto tóxico, se construyó un ranking de categorías de toxicidad basado en la tasa de crecimiento relativa del organismo: efectos no tóxicos (> 0,90); efectos levemente tóxicos (0,75-0,89), efectos moderadamente tóxicos (0,74-0,50) y efectos altamente tóxicos (<0,49). Se calculó el porcentaje relativo de cada categoría para cada sitio de monitoreo.

Resultados y conclusiones

La Fig. 2 muestra los resultados de los 3 bioensayos para las muestras de agua de los sitios estudiados. CRT muestra una clara diferencia en los resultados entre los sitios aguas arriba (A, Y y LT) y los aguas abajo (VU, CA, TB y SM); lo que sugiere mejor calidad en la cabecera. En particular, el crecimiento del tallo de *L. sativa* respecto al control fue mayor en los sitios río abajo de CRT, probablemente debido a la presencia de una alta concentración de nutrientes (Fig. 2C). Algo similar se observó en CRM, donde los sitios sobre canales mostraron mayor crecimiento del tallo que la cabecera RI, coincidiendo con valores más altos de concentración bacteriana y orgánica (resultados no mostrados).

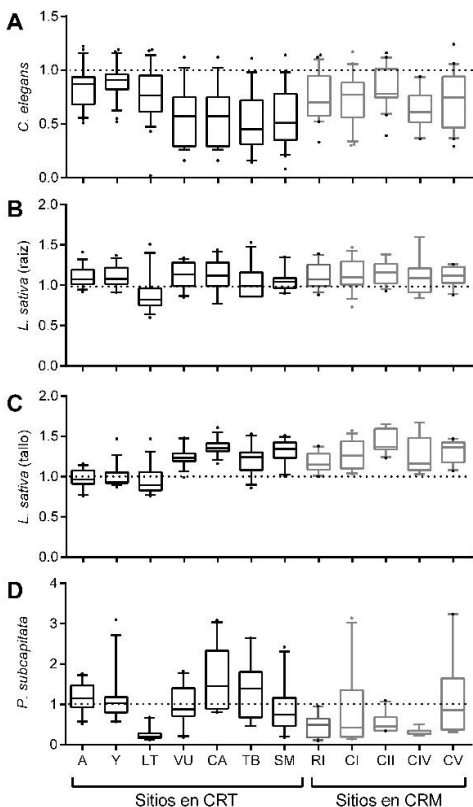


Figura 2: Distribución de la respuesta ecotoxicológica de *C. elegans*, *L. sativa* y *P. subcapitata*

La Fig. 3 ilustra las categorías toxicológicas y su frecuencia en cada sitio. Tanto para *C. elegans* como para *P. subcapitata*, cada sitio exhibió diferentes efectos biológicos tóxicos, obteniendo muestras que caían en tres o cuatro categorías tóxicas diferentes. La mayoría de las muestras en CRT aguas

abajo (VU, CA, TB y SM) obtuvieron una categoría de efecto altamente tóxico para el bioensayo de *C. elegans* (entre 54 a 83%), en contraste con los sitios aguas arriba en los que solo el 7% de las muestras LT cayeron en esta categoría. En los sitios de CRM, las muestras con categoría de efecto altamente tóxico para el bioensayo de *C. elegans* oscilaron entre 0 y 42%. Con respecto a *P. subcapitata*, todos los sitios CRM y LT y SM de CRT registraron más del 30% de las muestras en la categoría de efecto altamente tóxico. Para *L. sativa* solo LT destaca cierta frecuencia de muestras ligeramente tóxicas. Dado que no hay actividades urbanas o agrícolas en el sitio de LT, la fitotoxicidad podría deberse a una composición mineral natural del suelo.

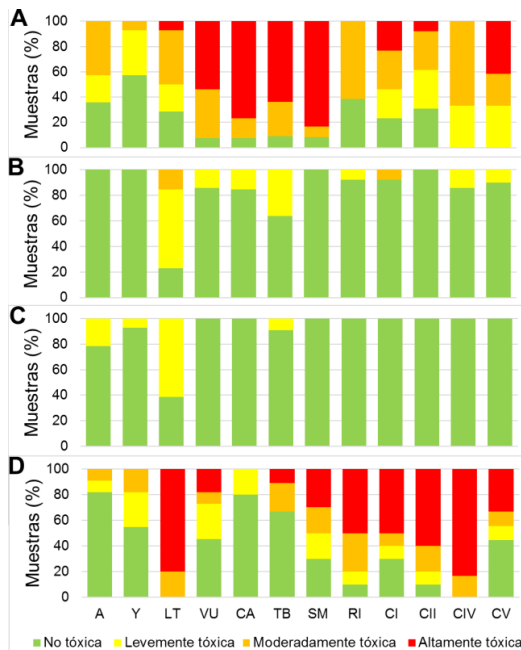


Figura 3: Frecuencia de muestras con categorías toxicológicas en cada sitio. *C. elegans* (A), *L. sativa* raíz (B) y tallo (C), *P. subcapitata* (D).

En resumen, se obtuvo una mayor frecuencia y distribución de la categoría más tóxica para el nematodo, lo que ilustra mayor sensibilidad. Así también, de los valores de mayor toxicidad para los modelos fitotóxicos, se muestra que no siempre es coincidente con el nematodo, refuerza la idea de la efectividad de usar una combinación de modelos biológicos en los análisis integrados de calidad del agua superficial. Esta representación tiene como fin, mostrar una herramienta visual que facilite la interpretación, a los efectos de apoyar y fortalecer la toma de decisiones para una adecuada gestión del agua, que proteja los ecosistemas acuáticos y la salud humana.

Referencias

APHA (2017). Standard Methods for examination of water and wastewater. 23rd Edition. Washington Am Public Heal Assoc. Washington;

Clavijo, A., Kronberg, M. F., Rossen, A., Moya, A., Calvo, D., Salatino, S. E., ...& Munarriz, E. R. (2016). "The nematode *Caenorhabditis elegans* as an integrated toxicological tool to assess water quality and pollution". *Science of The Total Environment*, 569, 252-261;

ISO (2010). ISO 10872: 2010. "Water quality-Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda)". Inter. Org. for Standardization, Geneva; Suiza

Mariani, A.; Bermejillo, A.; Hernández, R.; Stocco, A.; Morábito J. (2017). "Variabilidad de los parámetros químicos del agua de riego en el oasis norte y centro de Mendoza". 20ma Reunión Internacional de GIESCO. Mendoza, Argentina. 5 -10 de noviembre de 2017. ISBN 978-987- 42-6111-3. pp. 200.

Morábito J., Salatino S.E., Medina R., Miralles S.,...&, Burgos V. (2012). "Indicadores químico-microbiológicos de calidad de las aguas del ríoTunuyán superior (Mendoza, Argentina)". CLICAP. Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria – UNCuyo, San Rafael, Mendoza

OECD (2011). "OECD Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test". OECD Publishing, Paris.

Sobrero M.C y Ronco A., (2004). "Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración resultados y aplicaciones". Ed G. Castillo Morales. Inst. Mexicano de Tecnología del agua. México.