

Estudio Diagnóstico de la Ecotoxicidad de Afluentes del Río Guadalquivir, en el área comprendida entre Las Tipas y El Angosto de San Luis, Provincia Cercado – Tarija

*Diagnostic study of the ecotoxicity of Tributaries of the River
Guadalquivir, in the area between Las Tipas and El Angosto in San
Luis, Province Cercado – Tarija*

Rosalva Angulo Reyes

Departamento de Ingenierías y Ciencias Exactas, Universidad Católica
Boliviana “San Pablo” Tarija.

rosalva_angulo@ucbtja.edu.bo

Resumen: El presente trabajo de investigación abarcó el tramo del río Guadalquivir comprendido entre Las Tipas en la zona de Aranjuez hasta el Angosto de San Luis en El Temporal con el propósito de proporcionar información confiable de los parámetros ecotoxicológicos de calidad del agua del río Guadalquivir y de algunos de sus afluentes, de los que hasta ahora no se tiene ninguna referencia.

Se diagnosticó el nivel de ecotoxicidad presente en los afluentes del río Guadalquivir, a través del empleo de bioensayos estandarizados de toxicidad aguda, utilizando semillas de *Lactuca sativa* (lechuga variedad *White Boston*) y bulbos de *Allium cepa* (cebolla amarilla) como bioindicadores. De este diagnóstico y del cálculo del nivel de toxicidad se puede afirmar que existe fitotoxicidad en algunos de los cuerpos de agua estudiados, tal es el caso de las quebradas Sossa, Sagredo y Toro. Los niveles de toxicidad van desde moderadamente tóxico hasta muy tóxico, con algunos resultados de toxicidad inversa, considerando como parámetro de referencia el valor de las Unidades Tóxicas calculadas en función de la concentración de inhibición media CI_{50}

Palabras clave: Bioensayos, toxicidad, bioindicadores, *Lactuca sativa*, *Allium cepa*, Unidades Tóxicas, río Guadalquivir, Tarija.

Abstract: This research involved the section of the Guadalquivir River between Las Tipas in Aranjuez and El Angosto de San Luis in El Temporal, with the purpose of providing reliable information on water quality through ecotoxicological parameters in the river and some of its tributaries that was not available so far.

The current ecotoxicity level was diagnosed in the tributaries of the Guadalquivir river through standardized acute toxicity bioassays using seeds of *Lactuca sativa* (White Boston lettuce variety) and bulbs of *Allium cepa* (yellow onion) as bioindicators. From this diagnosis and the assessment of the toxicity level it can be said that phytotoxicity is present in some of the studied water bodies, like the cases of Sossa, Sagredo y Toro streams. The toxicity levels rank from moderate to very toxic and same toxic reverse results, considering the calculated value of the Toxic Units from the mean inhibition concentration IC_{50}

Keywords: bioassays, toxicity, biomarkers, *Lactuca sativa*, *Allium cepa*, Toxic Units, Guadalquivir River, Tarija.

1 Introducción.

Repetidamente, los ríos y arroyos próximos a los centros urbanos han sido utilizados como vertederos de desechos domiciliarios e industriales, el río Guadalquivir, en la ciudad de Tarija-Bolivia, no ha escapado a esta situación, alrededor del 40% de las descargas domésticas de la ciudad de Tarija, van a dar directamente al río o a las quebradas que son afluentes de éste. Para agravar la situación también hay conexiones de desagües de pequeñas y medianas industrias que de una u otra manera desembocan en el cauce del río.

Tradicionalmente y tal como lo establece la Ley 1333 y sus reglamentos, la calidad del agua se ha establecido preferentemente mediante análisis fisicoquímicos, que son más precisos en valor absoluto, pero proporcionan información parcial y puntual. Por otra parte, el énfasis en el control de los vertidos a los diferentes cuerpos de agua, ríos, lagos, etc. se ha abocado principalmente a la contaminación orgánica y de organismos patógenos, mientras que la problemática del efecto de los contaminantes presentes en descargas de mezclas complejas, como las aguas residuales crudas, es poco considerada (Ramírez R. y col., 2008). Algunas de las causales de esta falencia se relacionan con el elevado costo de los análisis de contaminantes considerados en nuestra legislación como parámetros de control complementario y especial (Ministerio de Obras Públicas de la República de Bolivia, 2005) así como con la falta de infraestructura, equipamiento y experiencia necesarios, para la detección de contaminantes tóxicos complejos que pueden generar riesgos para la salud humana y los ecosistemas naturales.

En las últimas dos décadas, a nivel mundial ha surgido un número creciente de investigadores e iniciativas científicas, como la red *Water Tox*, (Castillo, M., 2004) que trabajaron o trabajan en el desarrollo y aplicación de protocolos estandarizados de pruebas de toxicidad empleando bioindicadores. Estos trabajos sugieren que los criterios de análisis fisicoquímicos, por sí solos, son insuficientes para determinar el efecto de mezclas complejas de contaminantes sobre los ecosistemas acuáticos y la salud de las personas e instan a incluir baterías de bioensayos como métodos rápidos, de bajo costo y escaso requerimiento instrumental, para analizar y

monitorear la calidad de cuerpos de agua dulce. (Ramírez y col., 2008) (Bohórquez-Echeverry y Campos-Pinilla, 2007) (Bruchchen y col. 2013)

La *ecotoxicología* estudia y analiza los efectos de agentes químicos y físicos sobre organismos vivos, con particular atención a poblaciones y comunidades de ecosistemas definidos (Castillo, M., 2004). La principal ventaja del análisis ecotoxicológico es que refleja de manera integral el estado ecológico global, es decir, químico, físico y biológico y proporciona una visión integrada y extendida en el tiempo sobre la calidad del agua, por lo que puede reflejar condiciones previas al muestreo, como la presencia de contaminantes cuyos efectos sobre el ecosistema son a largo plazo. Las pruebas biológicas se pueden utilizar para evaluar la biodisponibilidad de contaminantes, a través de una gran diversidad de respuestas y a distintos niveles de organización biológica, estas respuestas van desde alteraciones bioquímicas y moleculares, hasta disfunción endocrina, modificaciones conductuales, efectos sobre crecimiento, reproducción o la muerte de los individuos de prueba. (Ramírez y col., 2008)

Los objetivos del presente trabajo son: 1) Diagnosticar el nivel de ecotoxicidad de los cuerpos de agua contaminados por la descarga de los efluentes urbanos e industriales que desembocan en el río Guadalquivir, a través del empleo de bioensayos estandarizados de toxicidad aguda y 2) identificar los sitios que presenten niveles más elevados de toxicidad con fines de ampliar el número y variedad de bioensayos en estudios posteriores.

La investigación tiene el propósito de proporcionar información confiable de los parámetros ecotoxicológicos de calidad del agua del río Guadalquivir y de algunos de sus afluentes, de los que hasta ahora no se tiene ninguna referencia, a través de la realización de ensayos de toxicidad aguda, empleando como bioindicadores bulbos de *Allium cepa* (cebolla) y semillas de *Lactuca sativa* (lechuga).

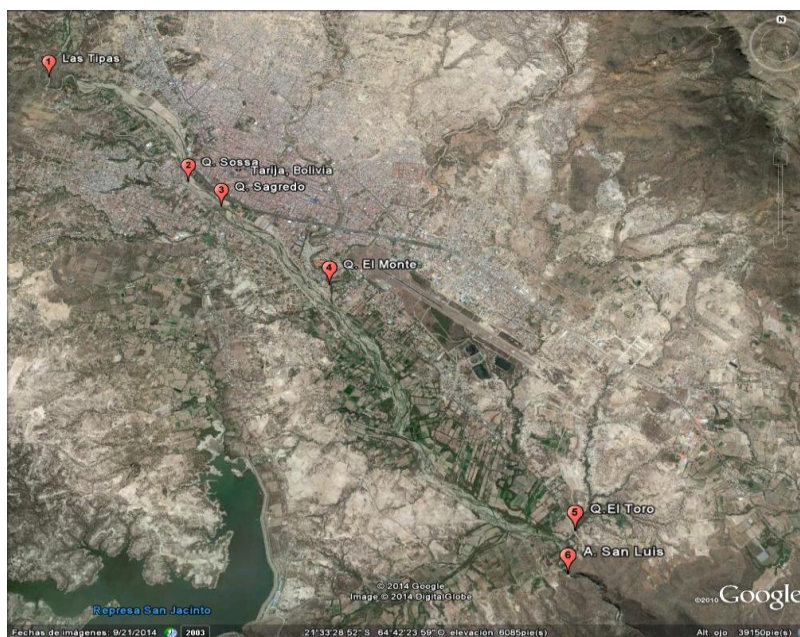
1.1 Área de estudio.

El estudio comprendió el trayecto del río Guadalquivir perteneciente a la provincia Cercado del departamento de Tarija, iniciando desde Las Tipas, zona de Aranjuez, a la altura de la caseta de bombeo de COSAALT hasta el Angosto de San Luis, zona “El Temporal”.

Dentro de este tramo se seleccionaron los siguientes puntos intermedios de muestreo: la quebrada Sossa, a la altura del mercado San Martín, antes de su descarga al río Guadalquivir. La quebrada Sagredo, metros antes de su unión con el río. La quebrada “El Monte”, en la zona del Tejar, detrás de la Academia de Policía y la quebrada del Toro. (Fig. 1 y tabla 1)

Tabla 1: Ubicación de los sitios de muestreo.

Punto	Nombre	Ubicación	
		Latitud	Longitud
1	Las Tipas	21°31'4,31" S	64°45'50,28" O
2	Quebrada Sossa	21°32'8,02" S	64°44'26,30" O
3	Quebrada Sagredo	21°32'22,62" S	64°44'7,08" O
4	Quebrada del Monte	21°33'6,70" S	64°43'6,84" O
5	Quebrada del Toro	21°35'13,66" S	64°41'1,17" O
6	Angosto de San Luis	21°35'34,38" S	64°41'4,96" O

**Figura 1:** Vista en *Google earth* de la ubicación geográfica de los sitios de muestreo.

1.2 Duración del trabajo de campo.

La parte experimental de este trabajo comprendió los meses de julio a noviembre del año 2014. Se escogió esta época del año por ser la de mayor déficit hídrico y por tanto en la que el efecto del aporte de contaminantes provenientes de las quebradas que desembocan en el río Guadalquivir es mayor.

2 Metodología.

El trabajo de investigación comprendió dos etapas: la toma de las muestras de agua en campo y la realización de los bioensayos de laboratorio.

El muestreo se realizó en cada uno de los sitios detallados en el acápite anterior, en todos los casos se realizaron mediciones *in situ* de pH, temperatura (T), oxígeno disuelto (O.D.), conductividad y adicionalmente la medición de sólidos disueltos totales (T.D.S.)

Las muestras se tomaron de acuerdo a las recomendaciones de la norma NB-496 (Ministerio de Medio Ambiente y Agua, 2014), y fueron conservadas en frío hasta su traslado al laboratorio de análisis de la Universidad Católica Boliviana regional Tarija (UCB-Tarija) donde se analizaron: alcalinidad total, dureza total, dureza de calcio, dureza de magnesio, calcio total, magnesio total, nitrógeno amoniacal, sulfuros totales, hierro total, nitritos, nitratos, sulfatos, cobre, cromo total (hexavalente), fósforo reactivo total y demanda biológica de oxígeno DBO5.

En cuanto a los bioensayos, se realizaron ensayos de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) variedad *White Boston* y de inhibición del crecimiento promedio de raíces en bulbos de *Allium cepa*, cebolla amarilla.

Para ambas especies se siguió los procedimientos descritos en la bibliografía por Castillo (2004), Ramírez y col. (2008) y los protocolos de la US EPA (1989) y Fiskesjö (1993).

Las semillas fueron adquiridas de semillerías locales, cuidando que sean semillas con un alto poder germinativo, mayor al 90%; previamente a cada bioensayo se seleccionó aquellas semillas de tamaño y apariencia uniforme. Un total de 20 semillas fueron colocadas cuidadosamente sobre papel filtro en cajas de Petri, a las que se le añadió 4 mL de la muestra a ensayar, que se guardaron protegidas de la luz a una temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$. Se trabajó con 3 réplicas de cada dilución. Se usó como control negativo agua de grifo que se dejó reposar al menos 24 horas antes de los ensayos y en la que se puso a germinar las semillas de lechuga en las mismas condiciones que las muestra ambientales. Las muestras se incubaron por un periodo de 120 horas, al cabo de las cuales se procedió a medir el largo de la raíz y del tallo de cada plántula.

Las características de los bioensayos con semillas de lechuga y bulbos de cebolla se ven en la tabla 2.

Tabla 2: Condiciones para las pruebas de toxicidad aguda.

Organismo de prueba	Semillas de <i>Lactuca sativa</i> var. <i>white Boston</i>	Bulbos de <i>Allium cepa</i> cebolla amarilla.
Tipo de ensayo	Estático	Estático
Temperatura	$20\pm 2^{\circ}\text{C}$	Ambiente
Condiciones de iluminación	Oscuridad	Indirecta
Volumen de la muestra de prueba	4 mL	Dependiendo del volumen del recipiente

Número de individuos por réplica	20	8
Número de réplicas	3	3
Duración de la prueba	120 horas	72 horas
Efecto medido	Porcentaje de inhibición. Índice de Germinación	Porcentaje de inhibición del crecimiento de las raíces
Criterio de rechazo	Germinación < 95% en el blanco.	Inhibición ≥ 30% en el blanco.
Control negativo (blanco)	Agua de grifo	Agua de grifo
Control positivo	Zn (II) a partir de ZnSO ₄	Cu (II) a partir de CuSO ₄

Posteriormente se calculó la media de la longitud de las raíces y tallos y el porcentaje de inhibición y el índice de germinación I.G. que fue utilizado para el cálculo de la concentración de inhibición media CI₅₀, en aquellos casos en los que los resultados del ANOVA fueron significativos y se tuviese al menos un tratamiento con más del 50% del porcentaje de inhibición.

La fórmula empleada para el cálculo es la siguiente:

$$IG = \frac{(N^{\circ} \text{semillas germinadas} \times \text{long. promedio raíces})_{\text{muestra}}}{(N^{\circ} \text{semillas germinadas} \times \text{long. promedio raíces})_{\text{control}}} \times 100 \quad (2.1)$$

Los bulbos de cebolla amarilla se compraron del mercado local uno o dos días antes de cada prueba. Se tuvo dificultad en encontrar bulbos pequeños de 1,5 cm de diámetro como recomienda la bibliografía, (Castillo M., 2004) por lo que se usó otros de mayor diámetro. Se seleccionó los individuos en cada tratamiento, cuidando que fuesen de similar tamaño y que estuviesen libres de hongos o deformaciones, además de revisar y limpiar cuidadosamente la zona radicular para así garantizar que el desarrollo de los bulbos fuese uniforme. Al cabo de 72 horas se recolectaron los bulbos y se procedió a medir el largo promedio de las raíces de cada uno.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 22, se realizó la prueba de normalidad con el test de Shapiro-Wilk, la de homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene, el análisis de varianza ANOVA, y en los casos en los que el test ANOVA resultó significativo se aplicó la prueba de Dunnett, una prueba *post hoc* de comparaciones múltiples frente al control (blanco), para el cálculo de concentración más alta a la que no se observa efecto (NOEC) y de la concentración más baja a la que se observa efecto (LOEC). En las muestras que no verificaron los supuestos de homocedasticidad y normalidad se empleó el test de Kruskal- Wallis, equivalente no paramétrico del análisis ANOVA.

En aquellas muestras que mostraron más del 50% de inhibición del crecimiento se calculó también la concentración de inhibición media, CI₅₀

empleando el análisis PROBIT y la toxicidad expresada en unidades de toxicidad UT:

$$UT = \frac{100}{CI_{50}} \quad (2.2)$$

El porcentaje de inhibición de las raíces de cebolla se calculó con la siguiente ecuación (Castillo, M, 2004):

$$\%Inhibición = \frac{\text{longitud control} - \text{longitud de la muestra}}{\text{longitud del control}} \times 100 \quad (2.3)$$

Para la categorización de los niveles de toxicidad se utilizó la relación propuesta por Zagatto y col. (1988) que se presenta en la tabla 3.

Tabla 3: Nivel de toxicidad basado en Unidades Tóxicas. Zagatto y col. (1988)

Nivel de Toxicidad	Unidades Tóxicas
No tóxico	1
Levemente tóxico	1 – 1,3
Moderadamente tóxico	1,3 - 2
Tóxico	2 - 4
Muy tóxico	> 4

3 Resultados y Discusión.

3.1 Bioensayos de las muestras ambientales.

Los bioensayos con las semillas de *Lactuca sativa* se realizaron los meses de julio, agosto y noviembre del presente año. En los primeros dos se utilizó diluciones logarítmicas: 1; 0,1; 0,01; 0,001 y 0,0001, pero debido a que la mayoría de los valores no sobrepasaron el 50% de inhibición, no se pudo calcular la CI_{50} y las UT. Se realizó el análisis de varianza ANOVA, presentando los datos comportamientos no normales respecto al valor del IG, por lo que se empleó para el análisis de los resultados y la verificación de la hipótesis nula, pruebas no paramétricas como la de Kruskal-Wallis. Luego de ajustar las concentraciones se realizó un último bioensayo en el mes de noviembre.

Como se puede ver en los datos de los IG que se presentan en la Tabla 4, las muestras de Las Tipas provocaron una estimulación del crecimiento en lugar de la inhibición, lo que llama la atención particularmente por su bajo contenido de carga orgánica reflejado en el valor de la DBO5.

Tabla 4: Índices de Germinación calculados para *Lactuca sativa*, meses de julio y agosto.

Dilución	Las Tipas		Qda. Sossa		Qda. Sagredo		Qda. Monte		Qda. El Toro		San Luis	
	julio	agosto	julio	agosto	julio	agosto	julio ^a	agosto	julio ^a	agosto	julio	agosto
1,000	75,35	101,30	102,6	77,00	55,32	67,13	s.d	67,75	s.d.	70,11	66,97	159,00
0,100	67,35	100,40	85,24	107,40	63,85	55,77	s.d	44,65	s.d.	89,30	63,83	107,30
0,010	s.d	86,16	61,33	88,62	47,48	65,71	s.d	86,19	s.d.	79,15	76,08	57,38
0,001	s.d	0,00	59,75	0,00	60,69	0,00	s.d	0,00	s.d.	0,00	81,51	0,00

s.d. Sin datos.

Debido a inconvenientes en el transporte de las muestras, no se tiene datos del mes de julio para la Qda. El Monte y la Qda. del Toro.

Tabla 5: Índices de Germinación calculados para *Lactuca sativa* mes de noviembre.

Dilución	Las Tipas	Qda. Sossa	Qda. Sagredo	Qda. El Monte	Qda. El Toro	San Luis
1,000	60,59	93,01	55,03	80,00	72,50	93,58
0,750	32,00	91,94	39,22	104,50	65,83	64,31
0,500	50,09	83,36	71,33	120,90	42,70	75,67
0,250	76,32	62,15	93,60	120,60	41,22	77,22
0,125	25,22	51,86	77,49	103,00	47,67	40,33

En el caso de la quebrada de Sossa, se observó que la muestra sin diluir promueve el desarrollo radicular; pero conforme baja su concentración disminuye el IG y aumenta la inhibición del crecimiento, por lo que el valor de toxicidad aumenta. Para verificar si este comportamiento anómalo no era producto de errores procedimentales se repitió la prueba con solo dos réplicas de cada dilución obteniendo similares resultados.

Podemos ver en los datos obtenidos en el mes de noviembre, que a pesar de haber cambiado el rango de las diluciones, la tendencia en el comportamiento del IG calculado para las semillas que crecieron en el agua de la quebrada de Sossa siguió siendo la misma, habiendo mayor germinación con la muestra sin diluir y disminuyendo ésta conforme se diluye la muestra. Esa es la razón de sus elevado valores de UT (tablas 6 y 7) que la clasifican como **Muy tóxica**.

Tabla 6: Indicadores de toxicidad estimados para *L. sativa* como bioindicador, meses de julio y agosto.

JULIO	Sig.	NOEC %	LOEC %	CL50 %	UT	CLASIFICACIÓN
Las Tipas	0,004 ⁽¹⁾	---	---	n/d (*)	---	-----
Qda. Sossa	0,000	----	0,0001	0,0004	2,0E+05	Muy Tóxico
Qda. Sagredo	0,000	n/d(**)	0,0001	n/d (*)	-----	-----
Qda. El Monte	0,000	---	---	---	---	-----
Qda. El Toro	0,000	---	---	---	---	-----
San Luis	0,279 ⁽²⁾			78,32	1,28	Levemente Tóxico
AGOSTO	Sig.	NOEC %	LOEC %	CL50 %	UT	CLASIFICACIÓN
Las Tipas	0,000	(**)	---	---	---	---
Qda. Sossa	0,280 ⁽³⁾	---	---	---	---	---
Qda. Sagredo	0,005	n/d (*)	0,001	n/d (*)	---	---
Qda. El Monte	0,000	1,0	0,1	3,56	28	Muy Tóxico
Qda. El Toro	0,000	1	0,1	----	---	---
San Luis	0,143 ⁽²⁾	---	---	---	---	---

(*) n/d Valor no determinado. No se puede hacer el análisis PROBIT porque ningún valor sobrepasó el 50% de inhibición, a pesar que todas las muestras produjeron efecto.

(**) Las muestras de Las Tipas provocaron la estimulación del crecimiento radicular respecto al blanco en todas sus concentraciones

(1) Se rechaza la hipótesis nula con el test de Kruskal-Wallis

(2) Se conserva la hipótesis nula con el test de Kruskal-Wallis

(3) No se cumple la hipótesis de normalidad ni la de igualdad de varianzas.

Tabla 7: Indicadores de toxicidad estimados para *L. sativa* como bioindicador, mes de noviembre.

MUESTRA	ANOVA		NOVIEMBRE			
	Sig.	NOEC %	LOEC %	CL50 %	UT	CLASIFICACIÓN
Las Tipas	0,000	---	12,5	50,64	1,97	Moderadamente Tóxico
Qda. Sossa	0,002	25	50	13,88	7,47	Muy Tóxico
Qda. Sagredo	0,054 ⁽¹⁾	n/d	n/d	n/d (*)	n/d (*)	-----
Qda. El Monte	0,003	n/d	12,5	n/d (**)	----	-----
Qda. El Toro	0,004	12,5	25	29,12	3,43	Tóxico
El Angosto de San Luis	0,020	---	12,5	14,14	7,07	Muy Tóxico

(*) No se puede calcular el Cl_{50} porque ningún valor sobrepasó el 50% de inhibición

(**) Todas las concentraciones ensayadas presentaron efecto inhibitorio, pero sin alcanzar el 50%.

(1) Se rechaza la hipótesis nula con el test de Kruskal-Wallis

Se ha encontrado referencias en la bibliografía de resultados similares (Bohórquez-Echeverry y Campos-Pinilla, 2007), que reportaron que los bioensayos con *Lactuca sativa* no mostraron efectos de inhibición gradual sobre el crecimiento radicular y sobre la tasa de crecimiento, respectivamente, sino que se observaron efectos de exaltación u hormesis¹ al disminuir las concentraciones de las muestras analizadas. En otros estudios sobre la toxicidad de aguas residuales industriales tratadas, empleando también semillas de *Lactuca sativa*, Garcia-Gonzalez y col. (2005) y Sánchez y col. (2007) reportaron que la toxicidad, medida en Unidades de Toxicidad aguda, en algunos casos aumentaba al disminuir los valores de DBO₅, DQO, después del tratamiento, en lugar de disminuir.

Este comportamiento podría explicarse considerando que la mayoría del caudal de la quebrada Sossa se debe a la descarga de aguas residuales domésticas con elevada carga orgánica por lo que el efecto de los nutrientes disueltos en el agua, enmascararía el efecto de contaminantes fitotóxicos presentes en su composición y cuyo efecto se hace evidente al disminuir la carga orgánica por el proceso de la dilución.

Como se puede ver en la tabla 6, la mayoría de los tratamientos no verificaron las condiciones de normalidad, ni de uniformidad de varianzas, por lo que se empleó el test de Kruskal-Wallis, equivalente no paramétrico del ANOVA.

El comportamiento de la muestra recolectada en la quebrada Sagredo muestra las mismas irregularidades presentadas antes en la Tabla 4, es decir los IG alternan entre valores altos y bajos sin importar la dilución, por esta razón no es posible calcular la CI₅₀ ni las Unidades de Toxicidad (UT)

Para el bioensayo del mes de noviembre, se emplearon cinco rangos de concentraciones: 12,5; 25, 50, 75 y 100%, además del blanco con agua de grifo como medio de crecimiento.

En cuanto a estimación de los indicadores de toxicidad NOEC (concentración más alta a la que no se observa efecto) y LOEC (concentración más baja a la que se observa efecto), estos límites no son fijos y dependerán mucho del rango de diluciones ensayados, sin embargo en algunos casos como en el de la muestra de la quebrada Sossa en la que la toxicidad va en aumento directo con la disminución de la concentración de la muestra, estos valores se hallan intercambiados, es decir el LOEC=50 % muestra la concentración más alta a la que no se observa efecto y el

¹ La hormesis es un fenómeno de dosis-respuesta caracterizado por una estimulación a dosis bajas e inhibición a dosis altas. (Calabrese, 2003)

NOEC= 25% la concentración más baja a la que se observa el efecto tóxico, por lo que no serán utilizados como referencia en las conclusiones de este trabajo.

Para ratificar estos efectos se realizará el mismo análisis de los resultados de los bioensayos con los bulbos de *Allium cepa*. Los resultados de los valores del porcentaje de inhibición se detallan en la tabla 8, se puede apreciar algunos valores negativos, estos significan aumento del desarrollo respecto al blanco en lugar de decremento. Se puede evidenciar niveles bajos a moderados de inhibición en los todos los tratamientos con las muestras de agua de Las Tipas, la quebrada del Monte y el Angosto de San Luis.

Tabla 8: Porcentaje de inhibición del desarrollo radicular medido para bulbos de *Allium cepa*.

DILUCIÓN	TIPAS	QDA. SOSSA	QDA. SAGREDO	QDA. EL MONTE	QDA. EL TORO	ANGOSTO SAN LUIS
	Septiembre					
1,00	9,5	47,7	-6,5	16,1	60,6	18,1
0,75	17,9	41,4	12,7	-4,8	61,5	15,4
0,50	31,7	57,0	15,1	33,6	28,7	16,8
Octubre						
1,00	1,4	72,1	94,0	53,6	41,8	17,3
0,75	29,9	55,8	70,3	29,7	39,6	10,8
0,50	-58,4	36,7	88,2	15,9	53,6	7,2
0,25	-76,4	34,9	52,8	16,9	67,3	26,5
Noviembre						
1,00	19,5	34,0	67,3	44,0	64,5	21,7
0,75	12,8	31,7	68,5	36,0	54,8	23,2
0,50	22,5	20,3	61,8	42,7	40,7	13,5
0,25	22,8	21,0	34,0	42,8	29,8	7,5

En dos de los tres ensayos se tienen (tabla 9) valores elevados de toxicidad para la quebrada de Sossa, de similar manera todas las muestras de la quebrada del Toro presentan un índice de toxicidad UT moderadamente tóxico.

Tabla 9: Indicadores de toxicidad estimados para *A. cepa* como bioindicador, meses de septiembre, octubre y noviembre.

SEPTIEMBRE	Sig.	NOEC (%)	LOEC (%)	CL50 (%)	UT	CLASIFICACIÓN
Las Tipas	0,004 ⁽¹⁾	75	50	n/d	n/d	-----
Qda. Sossa	0,000	25	50	66,0	1,52	Moderadamente Tóxico
Qda. Sagredo	0,190 ⁽³⁾	n/d	n/d	n/d (*)	n/d (*)	-----

Qda. El Monte	0,007 ⁽¹⁾	-----	50	n/d (*)	n/d	-----
Qda. El Toro	0,000	(b)	25	71,92	1,4	Moderadamente Tóxico
Angosto de San Luis	0,279 ⁽²⁾			n/d (*)	n/d (*)	-----
OCTUBRE	Sig.	NOEC (%)	LOEC (%)	CL50 (%)	UT	CLASIFICACIÓN
Las Tipas	0,000	(a)	-----	n/d (*)	n/d (*)	-----
Qda. Sossa	0,000	(b)	25	55,13	1,81	Moderadamente Tóxico
Qda. Sagredo	0,000	(b)	25	20,12	4,97	Muy Tóxico
Qda. El Monte	0,000	25	50	n/d (*)	n/d (*)	-----
Qda. El Toro	0,000	(b)	25	57,82	1,73	Moderadamente Tóxico
Angosto de San Luis	0,230 ⁽²⁾			n/d (*)	n/d (*)	-----
NOVIEMBRE	Sig.	NOEC (%)	LOEC (%)	CL50 (%)	UT	CLASIFICACIÓN
Las Tipas	0,000	-----	-----	n/d (*)	n/d (*)	-----
Qda. Sossa	0,000	(b)	25	n/d (*)	n/d (*)	-----
Qda. Sagredo	0,000	(b)	25	40,1	2,49	Tóxico
Qda. El Monte	0,000	25	50	n/d (*)	n/d (*)	-----
Qda. El Toro	0,000	(b)	25	60,44	1,65	Moderadamente Tóxico
Angosto de San Luis	0,012	50	75	n/d (*)	n/d (*)	-----

(*) No se puede hacer el análisis PROBIT porque ningún valor sobrepasa el 50% de inhibición

(a) La única concentración que no muestra efectos apreciables es la de 100%

(b) Todas las concentraciones ensayadas presentaron efecto inhibitorio del desarrollo radicular, pero sin alcanzar el 50%.

(1) Se rechaza la hipótesis nula con el test de Kruskal-Wallis

(2) Se conserva la hipótesis nula con el test de Kruskal-Wallis

(3) No se cumple la hipótesis de normalidad ni la de igualdad de varianzas.

En líneas generales se puede ver (tabla 9) que se mantiene las tendencias observadas en los bioensayos con semillas de lechuga, aunque éstas serían sensibles a concentraciones más bajas de los contaminantes del agua.

3.2 Análisis fisicoquímicos.

En cada una de las campañas de muestreo se midió *in situ* el pH, temperatura (T), oxígeno disuelto (O.D.), conductividad y adicionalmente la medición de sólidos disueltos totales (T.D.S.). (Tabla 10)

Tabla 10: Parámetros fisicoquímicos medidos en campo.

Parámetro	Unidad	LAS TIPAS					Qda. SOSSA					Qda. SAGREDO				
		Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.
T	°C	17,6	17,5	16,3	19,8	28,1	22,8	22,8	18,6	22,1	28,6	22,4	24,4	16,2	26,1	27,6
OD	mg/L	10,1	9,9	9,92	10,25	12,76	1,67	3,25	3,34	2,64	5,8	1,49	1,25	3,55	0	0
Conductividad	µS	85,3	185,2	94,4	76,6	83,7	703	309,1	723	525	150,2	755	964	863	626	567
pH	---	6,1	6,2	7,5	6,0	9,0	7,0	9,5	9,0	8,0	7,0	7,5	9,0	9,0	9,0	9,0
TDS	ppm	47,4	102,9	47,3	39,7	41,8	390,6	171,7	366,0	270,8	74,9	419,5	535,6	400,0	311,5	284,0
Parámetro	Unidad	Qda. EL MONTE					Qda. EL TORO					ANGOSTO SAN LUIS				
		Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.
T	°C	24,7	20,7	16,6	25,9	29,5	20,1	26,8	16,3	26,0	26,2	24,6	18,6	16,4	26,2	25,2
OD	mg/L	8,3	12,9	6,31	11,24	8,81	2,25	2,58	2,7	2,5	3,82	8,32	7,73	8,69	7,47	7,05
Conductividad	µS	122,2	949	964	540	642	577	1 119	740	756	668	276	350	437	256	321
pH	---	6,5	9,0	8,0	9,0	9,0	8,2	8,0	8,0	7,5	7,5	7,0	7,5	7,0	7,5	7,0
TDS	ppm	67,9	527,2	479,0	275,2	322,0	320,6	621,7	371,0	349,2	331,0	153,3	194,4	219,0	149,2	192

Tabla 11: Parámetros fisicoquímicos medidos en el laboratorio, meses de septiembre y noviembre.

PARÁMETRO	Unidad	Las Tipas		Qda. Sossa		Qda. Sagredo		Qda. Monte		Qda. Toro		San Luis		aValor Máximo Permitido
		Sep.	Nov.	Sep.	Nov.	Sep.	Nov.	Sep.	Nov.	Sep.	Nov.	Sep.	Nov.	
Temperatura del Agua	°C	15,3	26,7	22,8	28,6	21,4	29,3	24,7	29,5	20,1	23,3	24,6	25,4	---
pH		6	9,0	9	7,0	9	9,0	6,5	9,0	8,2	7,5	7,0	7,0	6,5 - 9,0
Conductividad	µS/cm	185,2	83,7	309,5	152,2	964	567,0	949	642,0	1.119	668,0	350	321,0	1.500,0

PARÁMETRO	Unidad	Las Tipas		Qda. Sossa		Qda. Sagredo		Qda. Monte		Qda. Toro		San Luis		aValor Máximo Permitido
		Sep.	Nov.	Sep.	Nov.	Sep.	Nov.	Sep.	Nov.	Sep.	Nov.	Sep.	Nov.	
DBO5	mg/l O ₂	0,0	1,5	287,0	131,0	252,0	247,0	80,0	39,0	68,0	56,0	44,0	38,0	80,0
Oxígeno Disuelto	mg/l O ₂	9,85	12,8	6,25	0,0	1,25	0,1	11,9	8,8	2,3	3,8	7,73	7,1	> 80 % sat. Clase A
Sólidos Disueltos Totales	ppm	76,4	41,8	17,2	74,9	716	2,8		322,0	320,6	331,0	153,3	192,0	1.000,0
Alcalinidad Total	mg/l CaCO ₃	3,2	0,1	17,2	18,0	30	24,4	29,6	15,6	20,8	26,4	11,2	21,2	370
Dureza Total	mg/l CaCO ₃	44,8	374,0	49,2	710,0	54,4	502,0	288,4	2.746,0	108,8	912,0	70,8	532,0	500
Dureza de Calcio	mg/l CaCO ₃	28	232	44	460	26	320	246	1.888	82	560	46	276	Sin Referencia
Dureza de Magnesio	mg/l CaCO ₃	17	142	5	250	28	182	42	858	27	352	25	256	Sin Referencia
Calcio Total	mg/l Ca	11,23	93,0	17,64	184,5	10,43	128,3	98,65	757,1	32,88	224,6	18,45	110,7	200
Magnesio Total	mg/l Mg	4,10	34,7	1,27	61,1	6,93	44,4	10,35	209,5	6,54	85,9	6,06	62,5	150
Nitrógeno Amoniacal	mg/l NH ₃ -N	0,02	0,1	4	8,3	1,41	1,5	3,5	3,2	2,3	7,2	5,3	3,0	0,5
Sulfuros Totales	µg/l S ²⁻	n.d.	n.d.	4.825	12,0	480	312,0	6	44,0	92	223,0	n.d.	2.470,0	0,1 clase A 1,0 clase D
Hierro Total	mg/l Fe	0,04	0,1	0,14	0,3	0,22	0,1	0,05	0,3	0,13	0,5	0,23	0,01	0,3
Nitritos	mg/l NO ₂ ⁻	0,010	0,01	0,036	0,25	0,023	0,04	0,289	0,55	0,002	0,03	0,119	0,05	0,1
Nitratos	mg/l NO ₃ ⁻	0,20	0,6	0,0	1,0	1,7	1,3	1,2	4,5	0,3	0,003	0,7	0,05	45
Sulfatos	mg/l SO ₄ ⁼	15	10,0	32	23,0	47	47,0	90	92,0	25	16,0	24	56,0	400
Cobre	mg/l Cu	0,03	0,03	0,02	0,20	0	0,37	0,11	0,15	0,01	0,26	0,05	0,11	1,0
Cromo Total (Hexavalente)	mg/l Cr ⁺⁶	0,004	0,025	0,059	0,008	0,127	0,132	0,016	0,001	0,004	0,124	0,018	0,236	0,05
Fosforo Reactivo (Total)	mg/l PO ₄ ³⁻	0,42	0,29	6,60	50,90	8,00	90,00	4,20	1,45	3,20	34,00	4,70	43,80	1,0 (Clase C)

Los valores en negritas corresponden a valores por encima de los valores límites establecidos de acuerdo a la Ley 1333 y el Reglamento en Materia de Contaminación Hídrica.
n.d. Valor no detectado. Valor por debajo del límite de detección del método.

Observando los valores de los parámetros medidos en campo podemos decir que la variación de la calidad de los cuerpos de agua estudiados alcanza valores críticos durante los meses de agosto a octubre, justo antes de la época de lluvias. Llama la atención los bajos valores de oxígeno disuelto en el agua de las quebradas de Sossa, Sagredo y El Toro, los que se mantuvieron por debajo de los límites permisibles durante todos los meses muestreados. En el caso de la quebrada de Sossa y Sagredo, al recibir aportes de aguas servidas que provienen de barrios aledaños a estas, su caudal no disminuye durante la época de estiaje, como ocurre con el caudal del río Guadalquivir por lo que sus aportes a éste se hacen más notorios durante los últimos meses de la época seca entre los meses de septiembre y octubre.

Los resultados de los análisis realizados en el laboratorio (Tabla 11) muestran elevadas concentraciones de fósforo reactivo total, en casi todas las muestras a excepción de la de Las Tipas y de El Monte, los valores en las aguas de las quebradas Sossa y Sagredo exceden hasta en 500 veces los límites permitidos, similar comportamiento se observa respecto al contenido de nitrógeno amoniacal que también excede en todos los casos, a excepción de Las Tipas, los valores límite establecidos en nuestra legislación. Estos datos pueden estar relacionados con el comportamiento de los valores del índice de germinación (IG), que a medida que se diluyen las muestras bajan aumentando el porcentaje de inhibición. Esto se puede explicar por el efecto estimulante del desarrollo que contenidos elevados de nutrientes, fósforo y nitrógeno, tienen sobre las semillas de lechuga y los bulbos de cebolla enmascarando el efecto tóxico de otros componentes presentes en las muestras de agua. También sobresale el valor de los sulfuros presentes en todas las muestras excepto en Las Tipas, y el dato de O.D. igual a cero en las quebradas Sossa y Sagredo.

Sin embargo, ninguno de los valores por sí solo podría explicar el comportamiento complejo de los resultados de los bioensayos, sino que más bien debe entenderse como una serie de procesos toxicocinéticos que involucran reacciones de sinergia, en los que se potencian los efectos individuales y antagonismos en los que ocurre lo contrario, el efecto individual es cancelado por los efectos de los otros tóxicos presentes.

4 Conclusiones y Recomendaciones.

- Se diagnosticó el nivel de ecotoxicidad presente en los afluentes del río Guadalquivir, a través del empleo de bioensayos estandarizados de toxicidad aguda. De este diagnóstico y del cálculo del nivel de toxicidad se puede afirmar que existe fitotoxicidad en varios de los cuerpos de agua estudiados, tal es el caso de las quebradas Sossa, Sagredo y Toro.

- Los niveles de toxicidad detectados variaron en un rango que va desde **moderadamente tóxico** hasta **muy tóxico** de acuerdo a la clasificación empleada en este estudio. Zagatto y col. (1988)
- Para las muestras tomadas de la quebrada de Sossa se observó el fenómeno conocido como hormesis. Si bien no se tiene una explicación cabal a éste hecho, la respuesta puede estar relacionada a la presencia de contaminantes fitotóxicos cuyo efecto se enmascararía por la elevada carga orgánica que tienen las aguas de esta quebrada y que al disminuir ésta, por la dilución, los efectos inhibitorios son más evidentes.
- Los resultados obtenidos para la quebrada de Sossa dan lugar a futuras investigaciones, con el propósito de identificar los contaminantes presentes en el agua, así como la toxicidad asociada a estos componentes.
- Se identificó los sitios que presentan los niveles más elevados de toxicidad y se plantea futuras investigaciones, con fines de ampliar el número y variedad de bioensayos incluyendo otros organismos de prueba, no sólo vegetales para así poder tener una visión más completa de los mecanismos que hacen a los procesos tóxicos en los cuerpos de agua.
- La evaluación de la toxicidad de mezclas complejas empleando bioensayos permite sumar información acerca del efecto de los contaminantes presentes en cuerpos de agua de composición variable como es el caso de las quebradas que desembocan al río Guadalquivir, por lo que los resultados obtenidos en este estudio, pretenden ser el inicio de estudios a mayor profundidad no sólo para identificar la presencia de agentes tóxicos, sino para proponer medidas de remediación.
- Se ve la necesidad de implementar controles ecotoxicológicos como medidas de calidad ambiental para los cuerpos de agua susceptibles de ser contaminados, con agentes químicos tóxicos, metales pesados o hidrocarburos, pero cuidando de seguir estrictamente los protocolos existentes.
- Será necesario buscar correlaciones estadísticas entre los valores de los parámetros fisicoquímicos y los datos de toxicidad calculados, para poder entender a cabalidad las relaciones existentes en las mezclas ambientales complejas, lo que abre otras oportunidades de investigación.

5 Agradecimientos.

La autora desea agradecer a la Universidad Católica Boliviana Regional Tarija y a sus autoridades, por haber financiado y apoyado este trabajo. Así como a los estudiantes de la cátedra de Ecotoxicología, quienes colaboraron en el trabajo

experimental y la realización de los bioensayos, en especial a José Humberto Hoyos, adjunto del Departamento de Ingenierías, sin cuya colaboración no se hubiese podido realizar eficientemente los muestreos de campo y el trabajo de laboratorio.

Bibliografía

- [1] Bohórquez-Echeverry, P., & Campos-Pinilla, C. (2007). Evaluación de *Lactuca sativa* y *Selenastrum capricornutum* como indicadores de toxicidad en aguas. *Universitas Scientiarum*, 12(2), 83-98.
- [2] Bruchchen, L., Silva, P., Silveira, F., Defaveri, T., & Geremias, C. P. (2013). Avaliação da toxicidade das águas do Rio Criciúma (Criciúma, Santa Catarina, Brasil), utilizando parâmetros físico-químicos. *Ecotoxicol. Environ. Contam.*, 8(2), 23-30.
- [3] Calabrese, E. J. (julio de 2003). The Maturing of Hormesis as a Credible Dose-Response Model. *Nonlinearity Biol Toxicol Med.*, 1(3), 319-343.
- [4] Castillo M., G. (Ed.). (2004). *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. México: IMTA.
- [5] Fiskesjö, G. (1993). The Allium test in wastewater monitoring. *Environmental Toxicology and Water Quality*(8), 291-298.
- [6] García-Gonzalez, V., Sánchez-Meza, J. C., Pacheco-Salazar, V. F., Gonzalez, C. d., Pavón-Silva, T. B., & Guerrero-Gonzalez, P. G. (2005). *Respuestas de Toxicidad de Bioensayos Empleados en la Industria*. Recuperado el 21 de noviembre de 2014, de http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/TA/EO/TAO-57.pdf
- [7] Ministerio de Medio Ambiente y Agua. (2014). *Compendio Normativo sobre Calidad del Agua para Consumo Humano. NB 512 - NB 495 - NB 496 Reglamento NB 512*. La Paz.
- [8] Ministerio de Servicios y Obras Públicas de la República de Bolivia. (2005). *Reglamento Nacional para el Control de la Calidad de Agua para Consumo Humano. Documento en consulta*. La Paz: Publicidad e Impresión GENESIS.
- [9] Ramírez R., P., & Mendoza C., A. (Edits.). (2008). *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México*. México: Impresora y Encuadernadora Progreso, S.A. de C.V.
- [10] Sánchez, J., Pacheco, V. F., & Pavón, T. B. (2007). Toxicity assessment of a complex industrial wastewater using aquatic and terrestrial bioassays *Daphnia pulex* and *Lactuca sativa*. *Journal of Environmental Science and Health. Part A.*(42), 1425-1431.

- [11] United States Environmental Protection Agency (USEPA). (1989). *Protocols for short term toxicity screening of hazardous waste sites*. Corvallis: US EPA 600/3-88/029.
- [12] Zagatto, P. A., Goldstein, E. G., & Bertoletti, E. (1988). Toxicidade de efluentes industriais da bacia do rio Piracicaba. *Ambiente: revista CETESB de tecnologia*, 2(1), 39-42.

Anexo Fotográfico



Figura 2: Bulbos de *Allium cepa* empleados en los bioensayos, al inicio, durante y al final del tiempo del ensayo.



Figura 3: Semillas germinadas de *Lactuca sativa* empleados en los bioensayos, medición del largo de la raíz de una plántula de lechuga.



Figura 4: Sitios de muestreo 1, y 2: Las Tipas y Quebrada Sossa



Figura 5: Sitios de muestreo 3 y 4: Quebradas Sagredo y El Monte



Figura 6: Sitios de muestreo 5 y 6: Quebrada El Toro y Angosto de San Luis