

PRUEBAS DE TOXICIDAD AGUDA CL (I) 50 EN PECES ESTUARINOS (*Gambusia affinis*) UTILIZANDO EFLUENTES INDUSTRIALES A LA BAHÍA DE CARTAGENA, COLOMBIA

Sandra Villamarín-Jiménez¹
María Fernanda Chacón-Castro²
Ricardo Álvarez-León³

RESUMEN

Se efectuaron pruebas de toxicidad con dos efluentes de ALCO Ltda. (el efluente Cospique que descarga desechos industriales y el efluente Casimiro donde se vierten aguas de enfriamiento), para analizar su efecto en los peces estuarinos *G. affinis* en un tiempo de 24, 48, 72 y 96 horas de exposición, con sistemas estáticos y sin recambio. En los análisis estadísticos se realizan regresiones por mínimos cuadrados ordinarios para determinar el tiempo letal medio y las curvas de toxicidad, se hallan los valores de la CL (I) 50 con sus límites de confianza bajo el método PROBIT. Con el efluente Cospique los porcentajes (%) y tiempo de exposición que se encontraron CL (I) 50 fueron de 15,91; 15,18; 15,18 y 15,12; para 24, 48, 72 y 96 horas de exposición respectivamente. Por tanto, el efluente Cospique es de mayor letalidad, demostrando el efecto inmediato de los mismos. Para el caso de los efluentes de ALCO Ltda. se encontró que a mayor concentración hay mayor mortalidad y menor tiempo letal medio. Los efluentes industriales estudiados son considerados inestables por la formación de complejos químicos resultado de sus compuestos.

Palabras clave: bioensayos, toxicidad, efluentes, peces, Colombia.

ACUTE TOXICITY TESTS CL (I) 50 IN ESTUARINE FISH (*Gambusia affinis*) USING INDUSTRIAL EFFLUENTS TO THE BAY OF CARTAGENA, COLOMBIA

ABSTRACT

Toxicity tests were carried out with two effluents of ALCO Ltda. (effluent Cospique which discharges industrial waste and effluent Casimiro into which the cooling water is discharged) in order to analyze their effect on the *G. affinis* fish during an exposure period of 24, 48, 72, and 96 hours with static systems and without replacement. Regressions by ordinary minimum quadratic were carried out in the statistical analyses to determine the median lethal time and the toxicity curves. The values for LC (I) 50 and their confidence limits were found using the PROBIT method. With the Cospique effluent the percentages (%) and the exposure time found LC (I) 50 were of 15,91; 15,18; 15,18 and 15,12 for 24, 48, 72 and 96 hours respectively. As a consequence, the Cospique effluent is of a higher lethality, demonstrating their immediate effects. In the case of ALCO Ltda. it was found that to higher concentrations was highest the mortality and lesser the median lethal time. The industrial effluents studied are considered unstable because of the formation of chemical complexes resulting from their compounds.

Key words: bioassays, toxicity, effluents, fishes, Colombia.

¹ Bióloga Marina. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Bogotá D.C., Colombia.

² Bióloga Marina. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Bogotá D.C. Colombia

³ Biólogo Marino. M.Sc. Fundación Verdes Horizontes. Manizales, Caldas, Colombia. Correo electrónico: ricardoalvarezleon@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La valoración de la contaminación en el medio natural ha tomado gran importancia durante las últimas décadas, fundamentalmente por el auge industrial que ha desarrollado el hombre a nivel mundial, dando como resultado tanto el vertimiento accidental de desechos durante su manejo, transporte o procesos de tratamiento, como también abiertamente en forma de efluentes residuales (1).

La contaminación de los mares causa vastos problemas que solamente una acción internacional podría resolver. La prevención de la contaminación de los mares tiende primordialmente a proteger la salud pública y los organismos vivos, especialmente los crustáceos, peces y moluscos (2).

Las pruebas de toxicidad acuática son utilizadas para detectar y evaluar los efectos potenciales toxicológicos sobre los organismos acuáticos. Estas pruebas proporcionan información de referencia que se puede utilizar para evaluar los riesgos de los agentes químicos del organismo y las condiciones de exposición (3).

Los bioensayos, según la FAO (2) comprenden:

[la] prueba en la cual un tejido vivo, un organismo o un grupo de organismos es usado como agente para la determinación de la potencia de alguna sustancia fisiológicamente activa de acción desconocida. Por tanto, los estudios toxicológicos mediante bioensayos y pruebas de toxicidad proporcionan información valiosa en el proceso de evaluación de los riesgos ambientales (4).

Hasta mediados de 1984 en Colombia no se habían dictado normas específicas, que reglamentaran la máxima concentración permisible de los

contaminantes para vertimientos de aguas residuales en las diferentes industrias. El Gobierno colombiano en vista de que en el país existen fuentes receptoras altamente contaminadas por descargas industriales y domésticas, y teniendo en cuenta el crecimiento de nuevas industrias y de la población, expidió el Decreto 1594 de junio 26 de 1984 sobre las concentraciones máximas permisibles de los contaminantes para los vertimientos de aguas residuales industriales (5).

Este trabajo tuvo como objetivo conocer el efecto de los efluentes que ALCO Ltda. vierte a la bahía mediante pruebas de toxicidad aguda, con el fin de determinar la concentración letal inicial que causa el 50% de mortalidad CL (I) 50 a 24, 48, 72 y 96 horas. Estos ensayos actualmente en Colombia son el criterio más utilizado para determinar y comprobar los efectos de la contaminación acuática. Se utilizaron peces (*G. affinis*) comunes en las costas colombianas; esta especie fue seleccionada por la posibilidad de mantener un *stock* poblacional, por ser de fácil manejo a nivel de laboratorio, y por ser una especie de importancia ecológica.

En el país los trabajos sobre bioensayos y pruebas de toxicidad aguda son escasos por ser un tema nuevo en nuestro medio. Entre los primeros trabajos que incluyeron bioensayos y pruebas de toxicidad aguda sobre especies ícticas colombianas, con sistemas estáticos se encuentran: Lara et al. (6), Montoya (7), Vergara (8) y Barreto (9).

Posteriormente, Escobar (10) realizó bioensayos para determinar la contaminación en aguas costeras y oceánicas de Colombia. Montoya (7) realizó pruebas de toxicidad aguda LC50 a partir de ensayos exploratorios con organoclorados sobre *Caquetaia kraussi* y *Tilapia rendalli*. Escobar (11) realizó bioensayos y pruebas de toxicidad para evaluar las concentraciones de hidrocarburos en organismos acuáticos y los efectos potenciales de derrames. Barreto (9) realizó pruebas de toxicidad con Aldrin en

Poecilia sphenops, determinando el LC, LC 84 y LC 16 para 96 horas. Santos y Torres (12) evaluaron la toxicidad sobre *Scenedesmus* sp. de aguas continentales y aguas marinas sobre *Dunaliella salina*, en un período de 96 horas de exposición a diferentes concentraciones de Corexit 7664, 8667, 9527. Martínez (13) desarrolló pruebas de toxicidad con el dispersante Numatrol 220 y su mezcla con el crudo Caño Limón en tres especies marinas; mientras Mosquera (14) realizó las mismas pruebas y además observó la demanda bioquímica de oxígeno. Álvarez y Borda (15) realizaron pruebas de toxicidad crónica con el dispersante Numatrol 220, el Fuel Oil No. 2 y su mezcla sobre la microalga *Tetraselmis* sp.

Específicamente sobre efluentes se encuentran los trabajos de Escobar (16), quien realizó estudios de contaminación con efluente de refinería sobre sistemas lénticos del Valle del Magdalena Medio. En la Bahía de Cartagena, Cabrales et al. (17) elaboraron pruebas de toxicidad con métodos estáticos y recambio manual de concentraciones para comprobar los efectos de los efluentes de hidrocarburos aromáticos procedentes de la refinería de Ecopetrol-Car sobre *Dormitator maculatus* y *Penaeus schmitti* en 24, 48 y 96 horas de exposición. Cabrales et al. (18) realizaron bioensayos de tolerancia térmica del efluente de CORELCA en la Bahía de Cartagena utilizando *Centropomus ensiferus* y *Penaeus notialis*. Martínez (19) trabajó con los efluentes de ALCO Ltda. sobre las microalgas *Tetraselmis chuii* y *Skeletonema costatum* determinando las EC (50) para cada especie.

Asimismo, Peláez (20) evaluó la toxicidad aguda a través de bioensayos con microcrustáceos, y Angulo et al. (21) realizaron bioensayos con efluentes de minas de carbón utilizando planarias.

La Bahía de Cartagena se sitúa en la costa Norte del Caribe colombiano entre los 10°15' y 10°28'N y los 75°28' y 75°42'W. Tiene una

longitud máxima de 15 km y una anchura de 8 km. El volumen de agua es de 122 millones de m³ y la profundidad promedio es de 16 m. La bahía además presenta áreas de intercambio con el mar abierto de 4000 m² en Bocagrande y de 5000 m² en Bocachica. En su extremo sur recibe las aguas del Canal del Dique, brazo artificial del río Magdalena, que aporta un volumen promedio de 85 m³/seg, y la convierten en un sistema estuarino positivo (22).

Sobre la región suroriental se encuentra la Zona Industrial de Mamonal situada a 15 km de la ciudad y con un área de 60 km², considerada el mayor núcleo de industria química y petroquímica en el país (23). Esta industria vierte en sus aguas residuales, sustancias químicas de diversa naturaleza y composición. Algunas industrias poseen instalaciones para el tratamiento de sus desechos acuosos, otras tienen muelles propios para recibir las materias primas y embarcar los productos elaborados, lo que afecta notablemente la calidad de las aguas de la Bahía de Cartagena (24).

Los efluentes de ALCO Ltda. están localizados en esta zona industrial. De los dos efluentes, uno descarga desechos químicos alcalinos (efluente Cospique), y el otro aguas de enfriamiento (efluente Casimiro). El área de Cospique tiene 134 ha y limita con CORELCA, ATUNCOL y la Bahía de Cartagena. Asimismo, el Caño Casimiro atraviesa las instalaciones de ALCALIS y llega a la bahía en forma paralela al muelle de la empresa. La zona donde está ubicada esta empresa contiene islotes cubiertos por manglar, los cuales aíslan en algunos sectores la línea de costa del resto de la bahía y se distribuyen entre CORELCA-ALCALIS y ELECTRIBOL-ALCALIS-PETROQUÍMICA (Figura 1).

Los bioensayos y las pruebas químicas se llevaron a cabo en los laboratorios del CIP-INDERENA, Regional Bolívar.

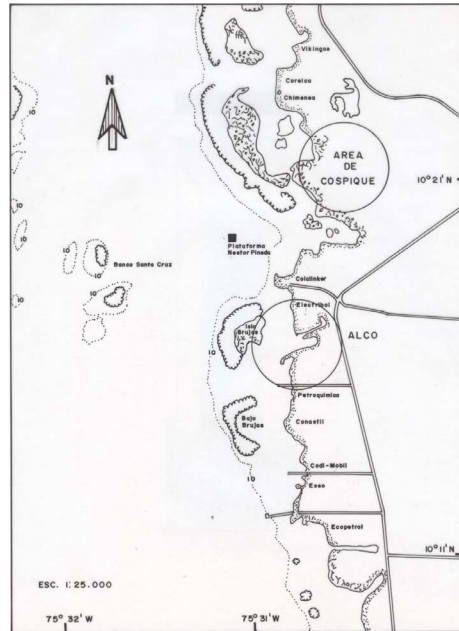


Figura 1. Zona Industrial de Mamonal (Cartagena) donde se muestran las áreas de muestreo: Casimiro y Cospique.

MATERIALES Y MÉTODOS

Después de realizar una salida de reconocimiento con el fin de identificar la posición geográfica y las características físicas de los efluentes Cospique y Casimiro, se observó que Cospique posee tres vertimientos en la bahía que están situados en la margen occidental de la laguna norte de sedimentación 54 (ha) donde se confinan los residuos industriales de ALCO Ltda. Las muestras de efluentes se tomaron en el punto de descarga de la laguna norte de sedimentación con el fin de desarrollar las pruebas de toxicidad aguda, CL (I) 50 a 24, 48, 72 y 96 horas.

Para conocer el efecto de este efluente en la bahía, se realizaron transectos longitudinales durante agosto, septiembre y noviembre de 1991, desde la línea de costa hasta el grupo de islas que bordean la zona costera. Estas muestras se tomaron a media agua (1 m) cada 100 m. Se tomaron parámetros físico-químicos *in situ* (temperatura, salinidad, pH, sólidos y alcalinidad) (25).

Al Caño Casimiro, en cambio, llegan cuatro afluentes de ALCO Ltda. (aguas de enfriamiento de los procesos industriales). Las muestras del efluente para desarrollar las pruebas de toxicidad aguda CL (I) 50 a 24, 48, 72 y 96 horas se tomaron bajo el puente que se sitúa al sur de la puerta 2 de la empresa.

Se realizaron también transectos longitudinales en agosto, septiembre y noviembre de 1991 ubicando estaciones cada 100 m, para observar la dinámica de las concentraciones del efluente a lo largo del caño hasta llegar a la Bahía de Cartagena. Se determinaron parámetros físico-químicos (temperatura, salinidad, pH, sólidos y alcalinidad) (25) (Figura 1).

DISEÑO EXPERIMENTAL

Tratamiento de las muestras de los efluentes

La recolección de las muestras de los efluentes para las pruebas se llevó a cabo en tanques de plástico amarillos y rojos de 100 l; temperatura,

salinidad y pH se determinaron al llegar al laboratorio. Estas muestras se trabajaron inmediatamente (efluente Casimiro), o se almacenaron en tanques de 100 l para decantarlas un máximo de 24 horas (efluente Cospique).

Las muestras para los análisis químicos (pH, salinidad, conductividad, dureza magnésica y dureza cálcica), se tomaron en envases plásticos. Estos análisis fueron desarrollados por el INDERENA en el laboratorio de química.

Por su parte ALCO Ltda. llevaba un registro interno de la caracterización de sus efluentes realizando análisis similares a los realizados en el INDERENA; determinando para el Casimiro: sólidos solubles, insolubles totales, sólidos totales, sólidos sedimentables, cloruros, carbonatos solubles, bicarbonatos solubles, carbonatos insolubles, sulfatos, amoníacos, turbiedad, pH; y para Cospique: sólidos solubles, sólidos en suspensión, sólidos totales, alcalinidad (P, Mg, OH, CO₃), dureza cálcica, dureza magnésica, amoníaco, turbiedad y pH.

Tipos de ensayo

Se corrieron ensayos estáticos y sin recambio del efluente durante el transcurso de la prueba con una duración de 96 horas, de acuerdo con Ward y Parrish (26) y Gutiérrez (27).

Se mantuvieron con aireación controlada al mínimo (140 burbujas/minuto), mangueras de silicona y capilares de vidrio. La densidad fue de 10 individuos por acuario (1 ind/2 l). Se utilizaron dos baterías cada una constituida por tres hileras de seis acuarios de vidrio de 20 l de capacidad.

Preparación del material de laboratorio

El protocolo de limpieza que se describe a continuación aseguró un buen grado de descontaminación (28): escobilleo con detergente; enjuague con pequeñas cantidades de HCl y HNO₃ al 10%; en el lavado inicial se dejó reposar por 24 horas en la solución ácida para eliminar

metales; se enjuagó cinco veces con agua potable, eliminando así residuos, detergente y ácido; secado libre de polvo atmosférico.

Tratamiento de la especie

Se tuvieron en cuenta los criterios propuestos por la FAO (2), Escobar (28) y Reish y Oshida (29).

Los peces (*G. affinis*) se transportaron en bolsas plásticas de polietileno de 50 l llenándolas a un volumen de 15 l con agua de los caños del medio natural que circundan la zona de Galerazamba (Atl.), donde se recolectaron. Se adicionó oxígeno con una densidad de 10 individuos/l dependiendo del tamaño de estos, evitando siempre su exposición a la luz solar hasta su llegada al laboratorio. Se les adicionó hielo alrededor de las bolsas, para su mayor conservación. Estas bolsas se colocaron en tanques *Eternit* con capacidad de 1000 l, se abrieron para variar la salinidad paulatinamente de 2 a 3 ppm/h hasta 15 ppm, y luego 1 ppm/h. La temperatura se varió hasta la del ambiente del laboratorio (M. Prieto, com. pers.).

Para evitar el contagio se procedió a aislar los enfermos del resto del lote. Para el tratamiento de las enfermedades se probaron tres antibióticos; Cloranfenicol: en dilución 3 ppm, con baños de 12 horas. Verde de Malaquita: 0,7 ppm con baños de 24 horas y Azul de Metileno: con dilución de 0,7 ppm, baños de 24 horas (M. J. Torres-Virviescas, com. pers.).

Para iniciar los ensayos con estos organismos se dejaron pasar 5 días después del tratamiento. Para evitar la proliferación de microorganismos en el siguiente lote, se esterilizaron los acuarios y todo el material de laboratorio con 200 mg/l de hipoclorito (26).

Aclimatación primaria

Los peces trasladados al Centro de Investigaciones Pesqueras CIP-INDERENA, se colocaron en estanques exteriores de cemento con un área de

18 m², profundidad de 1,20 m y densidades de 25 ind/m² según el tamaño de los animales. Se hicieron recambios según la necesidad del medio durante 15 días, suministrando alimentación diurna de 8 a 9:30 a.m. y nocturna de 4:30 a 5:00 p.m. A veces solo se alimentaron en la mañana. La cantidad dependió de la necesidad del crecimiento.

Aclimatación secundaria

Los peces se pasaron después a acuarios de 100 l realizando diariamente recambios de 70% de agua, alimentándolos de acuerdo al 1, 2 o 3% de la biomasa total húmeda. Diariamente se midió la temperatura y salinidad, manteniéndose a condiciones de laboratorio; en un rango de 28-30°C y 25 ppm. La duración de esta fase fue de 10 días. El alimento se les suspendió 24 horas antes de empezar las pruebas, siguiendo recomendaciones de la FAO (2).

Aclimatación terciaria

Se inició con el proceso de traspaso de los peces de aclimatación secundaria a los acuarios de 20 l con agua de dilución en volúmenes previamente establecidos; con aireación controlada y sin alimentación; con temperatura de 26°C y salinidad de 25 ppm por 24 horas.

Pruebas letales

Los efluentes se trabajaron como un 100% y por escala aritmética se establecieron cinco concentraciones para cada caso. Estas se diluían con agua de mar debidamente filtrada y proveniente del Laguito.

Pruebas de búsqueda

Los ensayos comenzaron cuando se tuvo contacto de los organismos con el efluente (Cospique o Casimiro según el caso), determinando un tiempo de exposición de 96 horas. Las pruebas se desarrollaron por duplicado y se escogieron cinco concentraciones en la mayoría de los casos, aunque en las pruebas desarrolladas para *G. affinis* hubo la necesidad de disponer hasta de 8 concentraciones (determinadas por modelo aritmético). Para hallar los volúmenes respectivos, se utilizó la siguiente fórmula:

$$[]^* v2 = []^2 * v1$$

Donde []1 = Efluente 100%

[]2 = Concentración escogida

V1 = 20 l (Capacidad del acuario)

V2 = Volumen necesario de efluente.

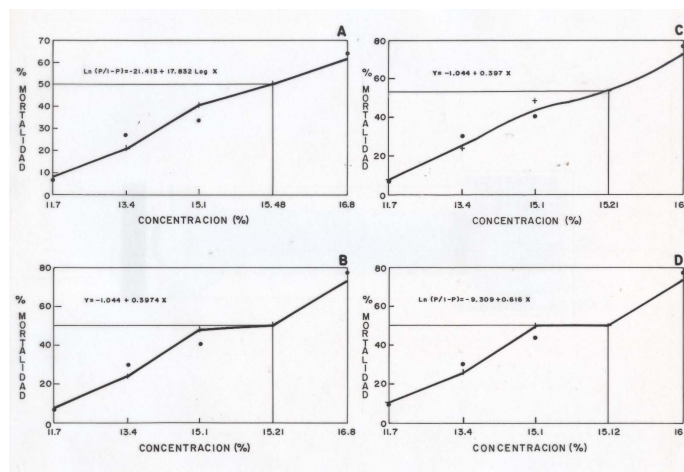


Figura 2. Determinación de la concentración letal media CL (I) 50-24 y 48 horas de exposición del efluente Casimiro vs. *G. affinis* (A y B), y CL (I) 50-72 y 96 horas (C y D) (* mortalidad observada; --- mortalidad ajustada).

Estas concentraciones variaron para cada caso y se realizaron con el fin de encontrar rangos más estrechos utilizados en las pruebas definitivas.

Se procedió a llenar los acuarios con agua de mar (agua de dilución) al volumen preestablecido, utilizando para ellos balones aforados de 1 y 2 l. Posteriormente se procedió a colocar los organismos (10 por acuario) con aireación mínima controlada 24 horas antes de iniciar la prueba, para minimizar el estrés de los mismos. El efluente se adicionó midiendo el volumen con balones aforados de igual manera que se realizó con el agua de mar. Los volúmenes de ml se tomaron con probetas de 250 ml, 500 ml y 1000 ml, hasta completar el volumen de 20 l. Iniciada la prueba se realizaron observaciones de sintomatología y mortalidades cada hora consecutivamente durante las primeras 12 horas y posteriormente espaciadas cada 24 horas hasta completar las 96 horas establecidas.

Los organismos muertos se retiraron con pinzas metálicas protegidas con cinta aislante y se colocaron en cajas de Petri rotuladas según la concentración y con formol al 10%. Se tomaron parámetros físico-químicos desde las cero horas cada 24 horas. Hasta las 96 horas se midió temperatura (termómetro Silber Brand), salinidad (refractómetro Atago S-10 Salt 10%) y pH (potenciómetro Schott Geräte, tipo pH-Meter C67/2).

Pruebas definitivas

Las pruebas definitivas se desarrollaron por triplicado, con los rangos encontrados en las pruebas de búsqueda. El procedimiento seguido fue el mismo descrito anteriormente para las pruebas de búsqueda.

Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se basaron en los métodos establecidos en el Curso Regional CPPS/PNUMA, específicamente en los lineamientos de Ramírez (1).

Con el método Dosis-Respuesta (PROBIT) se obtuvieron las concentraciones letales medias CL (I) 50 con sus límites de confianza al 95%; teniendo en cuenta el coeficiente de determinación más alto se escogió el modelo de mayor ajuste para estas; se realizaron gráficas de CL (I) 50 (mortalidad vs. concentración) para 24, 48, 72 y 96 horas, en todos los casos se plotearon los puntos observados y se ajustaron las curvas con las ecuaciones respectivas en cada tiempo de exposición. Las regresiones lineales por mínimos cuadrados ordinarios, se determinaron tanto para las ecuaciones de toxicidad como para el tiempo letal medio, cada uno de estos análisis con sus límites de confianza.

Para la realización de las gráficas de ecuación de toxicidad (concentración letal vs. tiempo), se tuvo en cuenta que el coeficiente de correlación fuera de 0,95 para cuatro puntos y de 0,97 para tres puntos observados (1).

Se llevaron a cabo gráficas del tiempo letal medio (mortalidad vs. tiempo), considerando aquellos valores obtenidos cercanos al 50% de mortalidad.

Sintomatología

Las observaciones sobre el comportamiento de la especie al ponerla en contacto con las diferentes concentraciones de los efluentes, se registraron dando a cada una la descripción macroscópica de la reacción, buscando usar los términos más representativos a la reacción observada. En el caso de *G. affinis* se utilizaron 7 grupos de características (comportamiento general, nado, tegumento, respiración, estructuras, respuestas digestivas, respuestas nerviosas, movimientos respecto al exterior) y 22 sub-características.

RESULTADOS

Parámetros físico-químicos

Los parámetros físico-químicos iniciales de los efluentes en las especies utilizadas oscilaron

en un rango de 9,5-12,0 para pH; temperatura de 29°-31° y salinidad de 10-24 ppm para el efluente Casimiro; de 11,2-12 en pH, de 27°-31° en temperatura y de 80-92 ppm en salinidad para el efluente Cospique (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros físico-químicos iniciales de los efluentes de ALCO Ltda. para las pruebas definitivas

Efluente	Especie	Parámetros			Fechas M-D-A
		pH	T °C	S ‰	
Casimiro	<i>G. affinis</i>	12	30,5	10	06-05-91
Casimiro	<i>G. affinis</i>	12	28	80	04-16-91

Los parámetros determinados durante las pruebas definitivas con las diferentes especies se presentan en la Tabla 2 para Casimiro y en la Tabla 3 para Cospique. Los rangos de estos resultados se sintetizan en la Tabla 4.

Mortalidad

Los valores de mortalidad para las concentraciones propuestas en las pruebas definitivas se registran en la Tabla 5 para el

efluente Casimiro y en la Tabla 6 para el efluente Cospique determinándose valores para 12, 24, 48, 72 y 96 horas de exposición.

Concentraciones letales

Las CL (I) 50 y sus límites de confianza se sintetizan en los efluentes Casimiro y Cospique en las Tablas 7 y 8 respectivamente. Los valores correspondientes se ilustran en las Figuras 3 y 4 para cada efluente.

Tabla 2. Síntesis del rango de los parámetros fisicoquímicos de las pruebas definitivas con los efluentes ALCO Ltda.

Efluente	Especie	Parámetros			Fechas M-D-A
		pH	T °C	S ‰	
Casimiro	<i>G. affinis</i>	7,2-8,9	26,0-29,0	20-29	06-05-91
Casimiro	<i>G. affinis</i>	7,9-10,4	25,5-28,0	27-37	04-16-91

Tabla 3. Síntesis de las CL (I) 50 y sus límites de confianza para las pruebas definitivas con el efluente Casimiro a 24, 48, 72 y 96 horas

Tiempo	Modelo	CL (I) 50	Límite sup.	Límite inf.
24	PROBIT	30,536	31,371	29,701
48	LOGIT	27,022	27,604	26,44
72	LOGIT	26,655	27,189	26,121
96	LOGIT	25,766	26,311	25,221

Tabla 4. Síntesis de las CL (I) 50 y sus límites de confianza para las pruebas definitivas con el efluente Cospique a 24, 48, 72 y 96 horas

Tiempo	Modelo	CL (I) 50	Límite sup.	Límite inf.
24	LOGIT LOG	15,878	16,400	15,356
48	PROBIT	15,210	15,553	14,867
72	PROBIT	15,210	15,553	14,867
96	LOGIT	15,117	15,482	14,752

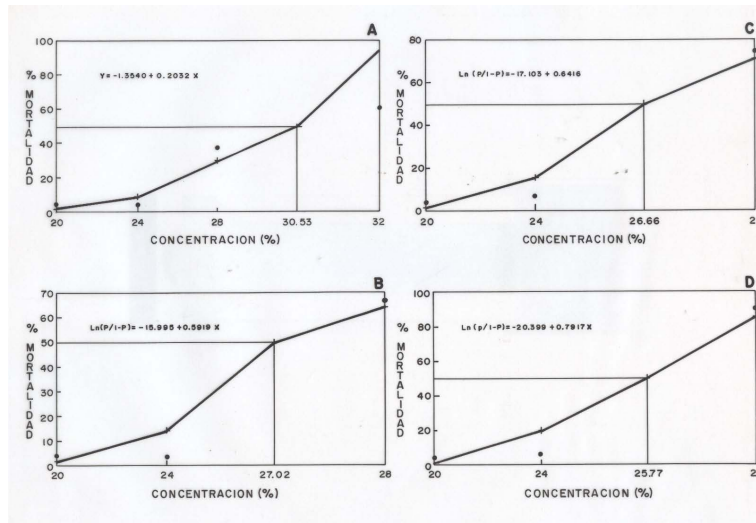


Figura 3. Determinación de la concentración letal media CL (I) 50-24 y 48 horas de exposición del efluente Cospique vs. *G. affinis* (A y B), y CL (I) 50-72 y 96 horas (C y D) (* mortalidad observada; --- mortalidad ajustada).

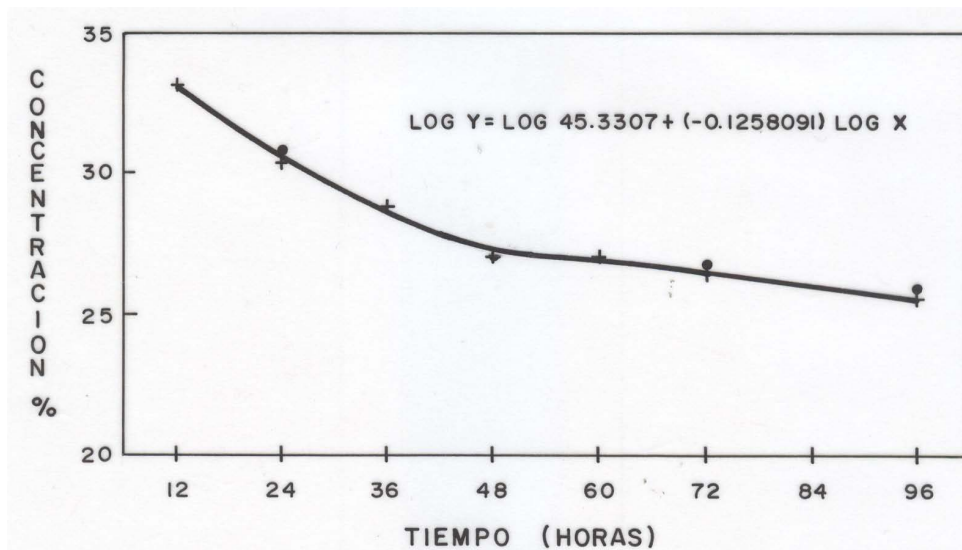


Figura 4. Curva de toxicidad para la prueba definitiva del efluente Casimiro vs. *G. affinis* (* mortalidad observada; --- mortalidad ajustada).

Tiempo letal medio

La determinación del tiempo letal medio por mínimos cuadrados ordinarios de *G. affinis* con los efluentes aparece en la Tabla 8.

Ecuaciones de toxicidad

Los valores de las ecuaciones de toxicidad se presentan en la Tabla 8 (Figura 4).

Sintomatología

Los datos de sintomatología observados en cada una de las pruebas y para cada una de las especies aparecen en la Tabla 7.

El efluente Casimiro es de composición inestable, pudiéndose incluso percibir fuertes olores a amoníaco en la zona donde se tomaron las muestras, dicho olor disminuye o desaparece en la época de invierno; contiene sólidos en suspensión que le dan apariencia lodosa. Respecto a los parámetros físico-químicos iniciales a las pruebas realizadas se observaron promedios de pH de 12; temperatura de 30,5°C y salinidad de 10 ppm en la mayoría de las pruebas (Tabla 1).

En las pruebas tanto de búsqueda como en las definitivas, estos parámetros se mantuvieron en los siguientes rangos: pH entre 7,2-8,9; temperatura entre 26°-29°C y salinidad de 20-29 ppm (Tabla 4).

DISCUSIÓN

Efluente Casimiro

Como se describió en la metodología, el Caño Casimiro es el resultado de las aguas de enfriamiento que utiliza la empresa para sus procesos y la vertiente natural que nace en Turbaná y recorre la zona industrial por su margen oriental.

Por la inestabilidad del efluente se dificultó en gran medida la ubicación de los rangos de las concentraciones a escoger. Las búsquedas arrojaron resultados antagónicos y por ello la necesidad de realizar 2 o 3 pruebas para asegurar las concentraciones de las definitivas por no encontrarse correlación en los resultados obtenidos en las búsquedas, donde se utilizaron ocho concentraciones para cada prueba.

Tabla 5. Análisis de regresión por mínimos cuadrados ordinarios para los valores de la prueba definitiva de los efluentes Casimiro, para determinar el tiempo letal medio TL (I) 50

Parámetro	Conc. 20%	Conc. 24%	Conc. 28%	Conc. 32%
Modelo	PO	E	E	E
Coefficiente de Regresión A	1,476	3,395	3,474	-
Coefficiente de Regresión B	-7,858E-03	-7,260E-04	-2,299E-0	-
Coefficiente de Determinación	0,930	0,890	0,966	-
Variación Explicada	93,031	89,046	96,647	-
F Calculado	40,052	24,387	86,473	-
Tiempo Letal Medio	1,53E 38	946,25	33,29	-
Límite Superior	9,79E 59	1765,66	54,212	-
Límite Inferior	1,56E 28	654,61	10,329	-

Tabla 6. Análisis de regresión por mínimos cuadrados ordinarios para los valores de la prueba definitiva de los efluentes Cospique, para determinar el tiempo letal medio TL (I) 50

Parámetro	Conc. 11,7%	Conc. 13,4%	Conc. 15,1%	Conc. 16,8%
Modelo	LO	PO	PO	PO
Coficiente de Regresión A	29,995	1,471	1,475	1,476
Coficiente de Regresión B	-1,300	-8,268E	-0,124	-0,377
Coficiente de Determinación	0,911	0,968	0,994	0,978
Variación Explicada	91,093	96,760	99,370	97,847
F Calculado	30,682	89,593	473,475	136,367
Tiempo Letal Medio	3,39E 11	3724,5	256,42	7,76
Límite Superior	1,24E 19	28271,18	439,67	17,63
Límite Inferior	275223174,6	953,95	157,99	3,11

Las concentraciones letales donde se presenta una mortalidad del 50% para *G. affinis* corroboran la similitud de los rangos entre las pruebas, determinándose así la letalidad del efluente con un 25% en promedio. Es importante anotar los efectos sintomatológicos observados en el transcurso de las pruebas; primero se observó una reacción inmediata de los organismos al contacto con el efluente, presentándose movimientos acelerados, estrés, nado errático y otra serie de síntomas que se describen en la Tabla 7; posteriormente los organismos muestran una adaptabilidad progresiva al efluente como se muestra en las curvas de toxicidad (Figura 4), que ilustran este comportamiento. Es importante resaltar nuevamente que aunque todos los coeficientes de correlación estuvieron por encima de 0,8 no se considera conveniente realizar gráficas para 3 o 4 puntos con coeficientes por debajo de 0,97 y 0,95 respectivamente, por no ser significativos a un 95% de confiabilidad.

Los sólidos en suspensión producen obstrucción en las branquias de los organismos y dilatación de la pupila.

Con el tiempo letal medio se determinó que a altas concentraciones se alcanza el 50% de

mortalidad en un corto tiempo, mientras que para las concentraciones más bajas este tiempo es muy prolongado; de tal manera que la mortalidad muestra dependencia tanto por la concentración del tóxico, como por el tiempo de exposición al mismo. En *G. affinis* fue de 33,29 horas para 28%.

Es importante aclarar que el modelo exponencial es un modelo deductivo que se ajusta tanto en el medio natural como en el laboratorio, aunque para el efecto de este trabajo se escogieron aquellos modelos que por coeficiente de determinación resultaron de mejor ajuste, siendo esto una elección de tipo inductivo (1).

Efluente Cospique

Al igual que el efluente Casimiro, este efluente también se caracterizó por su inestabilidad y presencia de sólidos en suspensión, pero su coloración es blancuzca debido a las altas concentraciones de magnesio y calcio. Es de textura viscosa y suave, a medida que se sedimenta el color se aclara; en el laboratorio se trató de simular lo que en realidad sucede en la laguna de sedimentación y así evitar nuevas interferencias a nivel del verdadero efluente

a través de los tres vertederos a la Bahía de Cartagena. El promedio de los parámetros físico-químicos del afluente inicial fue: pH de 12; temperatura de 28°C y salinidad de 80 ppm (Tabla 1).

Durante las pruebas los parámetros de pH, temperatura y salinidad registraron rangos de 7,9-10,4; 25,5-28°C y 27-37 respectivamente (Tabla 4).

El pH en el momento de iniciada la prueba fue muy alto (10,4) y a medida que transcurrió la misma se observó su disminución en 3 o 4 unidades, debido a la presencia de materias fecales excretadas por los organismos y a la disolución de sales; mientras que la temperatura y la salinidad se mantienen en los mismos rangos, variando de 1 a 2 ppm.

Para *G. affinis* se hallaron concentraciones desde 11,7-18,5% y una concentración letal de 15,9-151,1% (Tabla 8), demostrando de esta manera que a pesar de ser más resistentes que los camarones, la toxicidad del efluente es alta. La respuesta de los diferentes organismos al efluente fue también inmediata como en el caso de Casimiro, presentándose estrés, nado errático, espasmos y específicamente en este afluente se denotó muy marcadamente la rapidez en el cambio de mudas, desde las concentraciones más altas a las más bajas por los altos porcentajes de salinidad. Se apreció muy frecuentemente que el efluente produce escozor a nivel de la epidermis, esta observación se confirmó posteriormente puesto que los organismos muertos presentaron resequeidad en esta. En algunas concentraciones los individuos presentaron hemorragias a nivel de las branquias y del abdomen.

Tabla 7. Sintomatología observada en *G. affinis* con aguas del efluente Casimiro y Cospique (x = presencia; - = ausencia)

SINTOMATOLOGÍA	Control 12-96	20% 12-96	24% 12-96	28% 12-96	32% 12-96	36% 12-96
- Comp. Gral.						
Control	x (12)	x (24-96)	x (72-96)	x (12-24)	-	-
Excitación	-	x (12)	x (12)	x (48-96)	x (12)	x (12)
Quietedud	-	-	-	-	-	-
Irritación	-	-	-	-	-	-
Ten. Superficie	-	x (12)	x (12)	x (12-24,72-96)	x (12)	x (12)
- Nado						
Errático	-	-	x (12-24)	x (12-48,72)	x (12-24)	x (12)
Rotativo	-	-	-	-	x (12-24)	x (12)
Invertido	-	-	-	x (24-48)	-	-
Lateral	-	-	-	-	-	-
C. lado y fondo	-	-	-	x (12-96)	x (12-24)	x (12)
- Tegumento						
Cambio Pigment.	-	-	-	x (24-48)	x (12-24)	x (12)
Secrec. Mucus	-	-	-	x (72)	x (12-24)	x (12)
Hemorragias	-	-	-	-	-	-
- Respiración						
Rápida	-	x (12)	x (12)	x (12-48)	x (12-24)	x (12)
Lenta	-	-	-	x (72-96)	x (12-24)	x (12)
Tragos de aire	-	-	-	x (96)	x (12-24)	x (12)
- Estructuras						
Hemo. branquias	-	-	-	-	-	-
Mucus branquias	-	-	-	x (72)	x (12-24)	x (12)
- Res. Digestivas						
Vomito	-	-	-	-	x (12)	x (12)
- Res. Nerviosas						
Hipersensibilidad	-	-	-	x (12-24)	x (12)	x (12)
- Mov. Exterior						
Tacto	x (12-96)	x (12-96)	x (12-96)	x (12-48)	x (12)	-
Sonido	x (12-96)	x (12-96)	x (12-96)	x (12-48)	x (12)	-

Tabla 8. Análisis de regresión para determinar la ecuación de toxicidad en para los efluentes Casimiro y Cospique

Efluente	Especie	Modelo	Coefficiente de correlación	Ecuación de toxicidad
Casimiro	<i>G. affinis</i>	PO	0,965611	$\log Y = \log 45,3307 + (-0,1258091) \log X$
Cospique	<i>G. affinis</i>	LI	0,909352	$\log Y = \log 17,7441 + (-3,658104E-02) \log X$

En la prueba definitiva de *G. affinis* se comprobó que para la primera concentración propuesta el rango de mortalidad fue muy bajo (concentración de 11,7%), aumentando a mayor concentración.

Con respecto al tiempo letal medio, se puede mencionar que a mayor concentración el valor de este parámetro se alcanza en un tiempo corto, mientras que a menor concentración este tiempo es difícil de lograr.

Al igual que para el efluente Casimiro, en Cospique se encontraron rangos muy estrechos en la mayoría de las concentraciones en *G. affinis*, para el 16,8% el TI (I) 50 fue de 7,6 horas.

Aunque el efluente Casimiro y el efluente Cospique son de diferente composición se comportan de manera similar, ya que se observan efectos letales inmediatos donde a mayor tiempo de exposición se reduce la tasa de mortalidad, presumiblemente porque las fracciones más tóxicas se evaporan, oxidan o degradan en el medio.

En las normas de vertimiento del Decreto 1594 de 1984, los rangos permisibles de contaminación con respecto al pH se establecen entre 5 y 9 unidades; dichos niveles se sobrepasan tanto en las pruebas definitivas (Tablas 2 y 3), como en las estaciones realizadas para las radiales de los efluentes estudiados.

CONCLUSIONES

El efecto tóxico de los efluentes (Casimiro y Cospique) es de acción inmediata, para los peces,

aunque se nota buena resistencia y robustez de *G. affinis*.

A medida que transcurre el tiempo se reduce la tasa de mortalidad de los organismos expuestos, lo que indica que presumiblemente hay pérdida de las fracciones más tóxicas.

Los efluentes industriales estudiados en el presente trabajo se consideran inestables resultado de la complejidad de compuestos y caudales diferentes que allí se vierten, por lo que los resultados encontrados son representativos de unas condiciones particulares del mismo.

La concentración letal sobre *G. affinis* se presenta en un rango de 25,77-30,54% con el efluente Casimiro. Con el efluente Cospique fue de 15,11-15,91%, indicando de esta manera que Cospique tiene una letalidad aproximadamente de 2 a 3 veces mayor que Casimiro.

El tiempo letal medio para el efluente Casimiro sobre *G. affinis* para 16,8% es 7,76 horas; indicando que para el caso de los efluentes industriales de ALCO Ltda. a mayor concentración letal, mayor mortalidad y menor tiempo letal medio.

La curva decreciente del efluente Casimiro vs. *G. affinis* indica que a mayor unidad de tiempo la concentración letal presenta una reducción constante; demostrando de esta manera la acción inmediata de los efluentes.

Los rangos de pH de los efluentes industriales de ALCO Ltda. tomados en las pruebas definitivas con *G. affinis* sobrepasan el rango (5-9 unidades) estipulado en el Decreto 1594 de 1984.

La reacción de los organismos expuestos a los efluentes de ALCO Ltda. fue inmediata y constante hasta las 48 horas de exposición, a partir de las cuales se presentó una aparente adaptación de los mismos al medio; determinándose que no se produce aumento en el efecto tóxico de los efluentes.

Los organismos utilizados (*G. affinis*) se comportan como bioindicadores ante los contaminantes (aguas calientes y compuestos alcalinos) de los dos efluentes industriales evaluados, de acuerdo a los criterios de Mohammad et al. (30) y Wickins (31).

Infortunadamente no existen trabajos similares en cuanto a la naturaleza de los efluentes, ni al

área de estudio, ni a las sustancias presentes ni a los organismos utilizados (estuarinos y marinos), por ello esta contribución es pionera en Colombia y en el exterior.

AGRADECIMIENTOS

A las directivas del IFI y de ALCO Ltda. —Planta de Cartagena—, por su colaboración en los muestreos y en la información básica suministrada. A la dirección regional del INDERENA, a los colegas J. Álvarez, A. Martínez, M. Prieto y O. Gutiérrez por su apoyo en la parte experimental, y a A. Ramírez por sus sugerencias y comentarios en el análisis de resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ramírez A. Fundamentos cuantitativos para realizar ensayos biológicos y pruebas de toxicidad. Curso Regional de Entrenamiento PNUMA / PAC / FAO / COI / INDERENA sobre Ensayos Biológicos de Toxicidad como Bases Técnicas para Formular Criterios de Calidad en el Gran Caribe. Cartagena (Bol.), Colombia, junio 11-25; 1989.
2. FAO. Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 4a. Base para la elección de ensayos biológicos para evaluar la contaminación marina. FAO. Doc. Téc. Pesca 1981; 164:1-34.
3. Rand GM, Petrocelli SM. Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications. Hemisphere Publ. Corp. Washington (USA); 1985.
4. Alcázar F. Toxicidad y efectividad del dispersante SEAF-014 MOLYPAC Ltda. Dpto. de Oceanología. Univ. Chile. Sede Valparaíso, Montemar (Chile); 1980.
5. República de Colombia. Decreto 1594 de junio 26 de 1984, Por el cual se reglamenta parcialmente el título I de la Ley 9 de 1979, así como el capítulo II del título VI - parte III - libro II y el título III de la parte III - libro I - del Decreto 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos. Bogotá D.E., Colombia; 1984.
6. Lara C, Valderrama M, Valderrama J. Ensayos de toxicidad aguda sobre especies ícticas colombianas mediante sistemas estáticos. Tesis Profesional. Fac. de Biología Marina, Univ. de Bogotá Jorge Tadeo Lozano; 1977.
7. Montoya DF. Pruebas de toxicidad aguda LC50 con algunos organoclorados, en dos especies continentales: mojarra amarilla (*Petenia kraussii* Steindachner, 1878) y la tilapia (*Tilapia rendalli* Boulenger, 1898) a partir de ensayos exploratorios. Tesis Profesional. Fac. de Biología Marina, Univ. de Bogotá Jorge Tadeo Lozano; 1981.
8. Vergara VH. Determinación de la concentración letal media LC50 del herbicida Stam sobre dos especies ícticas de la cuenca magdalénica: Tilapia (*Tilapia nilotica*) y Bocachico (*Prochilodus reticulatus magdalenae*). Tesis Profesional. Fac. de Biología, Pontificia Universidad Javeriana; 1982.
9. Barreto J. Pruebas de toxicidad aguda con un pesticida clorinado policíclico (ALDRIN), en *Poecilia sphenops* Valenciennes, 1886. Tesis Profesional. Fac. de Biología Marina, Univ. de Bogotá Jorge Tadeo Lozano; 1984.
10. Escobar JJ. Determinación de los niveles de seguridad mediante bioensayos en la contaminación acuática de Colombia, aguas oceánicas y costeras. Proyecto de Investigaciones INDERENA / FUNDEMAR / COLCIENCIAS. Cartagena (Bol.); 1980.
11. Escobar JJ. Bioensayos y pruebas de toxicidad para evaluar el efecto de la contaminación acuática de los organismos hidrobiológicos y los efectos tóxicos de los derrames de hidrocarburos. INDERENA-Subgerencia Medio Ambiente. Bogotá D.E., Inf. Técnico; 1983.
12. Santos S, Torres F. Efectos tóxicos de tres dispersantes COREXIT 7664 - 8667 - 9527) sobre *Scenedesmus* sp. Meyer, 1829 y *Dunaliella salina*. Tesis Profesional. Fac. de Biología Marina, Univ. de Bogotá Jorge Tadeo Lozano; 1988.
13. Martínez DP. Efectividad y pruebas de toxicidad del dispersante NUMATROL 220 y su mezcla con el crudo Caño Limón en tres especies marinas. Tesis Profesional. Fac. de Biología, Univ. del Valle; 1989.
14. Mosquera AI. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y toxicidad del crudo Caño Limón y su mezcla con el dispersante NEUMATROL 220 en tres especies marinas. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias, Universidad del Valle; 1989.
15. Álvarez J, Borda LB. Pruebas de toxicidad crónica con un dispersante, el fuel-oil No. 2 y su mezcla respectiva sobre la especie de microalga Chlorophyta *Tetraselmis* sp. Tesis Profesional. Fac. de Biología Marina, Univ. de Bogotá Jorge Tadeo Lozano; 1989.
16. Escobar JJ. Contribución al conocimiento de la contaminación con efluentes de refinera en dos sistemas lénticos del Valle del Magdalena Medio. Tesis Profesional. Fac. de Biología Marina, Univ. de Bogotá Jorge Tadeo Lozano; 1975.

17. Cabrales OR, Del Valle P, García S. Bioensayos y pruebas de tolerancia térmica sobre el efluente de la Corporación Eléctrica de la Costa Atlántica CORELCA-TERMOCARTAGENA. INDERENA / CORELCA. Cartagena (Bol.). Inf. Técnico; 1983.
18. Cabrales OR, García S, Del Valle P, Ocaña M. Estudios ecológicos de las áreas de influencia de ECOPEPETROL sobre la Bahía de Cartagena Fase IV. Bioensayo en compuestos cíclicos y efluentes de la Bahía de Cartagena. INDERENA-ECOPEPETROL. Cartagena (Bol.). Inf. Técnico; 1983.
19. Martínez A. Pruebas de toxicidad subletales con los efluentes de Alcalis de Colombia Ltda. en las microalgas marinas *Skeletonema costatum* y *Tetraselmis chuii* a 96 y 120 horas respectivamente. CIP-INDERENA. Inf. Téc.; 1991.
20. Peláez M. Evaluación de la toxicidad aguda de aguas residuales industriales a través de bioensayos con micro-crustáceos. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias, Univ. del Valle; 1993.
21. Angulo JA, Angulo W, Zúñiga de Cardoso, MdelC. Evaluación de toxicidad aguda en sedimentos acuáticos: Evaluación de toxicidad aguda de efluentes de minas de carbón mediante el uso de bioensayos. Mem. II Seminario Nacional de Limnología. Medellín (Ant.), Colombia; 1994.
22. CGA. Estudio del control de la contaminación en la bahía de Cartagena y sus áreas de influencia. Cartagena (Bol.). Inf. Final; 1983.
23. Hernández EJ. Contaminación acuática en Colombia (aguas continentales y marinas). UBJTL-Inf. Museo del Mar 1976; 17:1-47.
24. Álvarez-León R. Bibliografía sobre la bahía de Cartagena y sus alrededores, hasta septiembre de 1979. UBJTL-Inf. Museo del Mar 1979; 24.
25. Chacón MF, Villamarín S. Pruebas de toxicidad aguda L (50) a 24, 48, 72 y 96 horas a partir de efluentes industriales en camarones *Penaeus vannamei*, *P. schmitti* y peces (*G. affinis*). Tesis Profesional. Fac. de Biol. Marina, Univ. de Bogotá Jorge Tadeo Lozano; 1991.
26. Ward GS, Parrish PR. Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 6. Ensayos de toxicidad. FAO. Foc. Tec. Pesca 1983; 185:1-25.
27. Gutiérrez EA. Bioensayos y pruebas de evaluación toxicológicas. Curso Regional de Entrenamiento PNUMA / PAC / FAO / COI / INDERENA sobre Ensayos Biológicos y Pruebas de Toxicidad como Bases Técnicas para Formular Criterios de Calidad en el Gran Caribe. Cartagena (Bol.), Colombia, junio 11-25; 1989.
28. Escobar JJ. Ensayos estándar de toxicidad. Curso Regional CPPS/PNUMA/COI sobre bioensayos y Pruebas de Toxicidad para evaluar el efecto de la contaminación en organismos marinos en la Región del Gran Caribe. Cartagena (Bol.), Colombia; 1989.
29. Reish DJ, Oshida PS. Manual of methods in aquatic environment research. Part 10. Short-term static bioassays. FAO. Fish. Tesch. Pap 1977; 247:1-62.
30. Mohammad BZ, Garza-Cuevas R, Garza-Almanza V, Landeros-Flores J. Los indicadores biológicos en la evaluación de la contaminación por agroquímicos en ecosistemas acuáticos y asociados. 2005. Disponible en: <http://www2.uacj.mx/IIT/CULCYT/Enero-Febrero2005/5ArtPrin.pdf>
31. Wickins JF. The tolerance of warm-water prawns to recirculated water. Aquaculture 1976; 9:19-37.