



Vol 15, N° 2
Abril - Junio 2015

ISSN: 1317-2255
Deposito Legal: pp 20002FA828
Dep. legal ppi 201502ZU4642

Multiciencias

Universidad del Zulia
Revista Arbitrada Multidisciplinaria

R M C_s

NUF



LUZ Punto Fijo

Núcleo LUZ-Punto Fijo
Programa de Investigación y Posgrado
Falcón-Venezuela

MULTICIENCIAS, Vol.15, N° 2, 2015 (143 - 148)

ISSN: 1317-2255 / Deposito Legal: pp 20002FA828 / Dep. legal ppi 201502ZU4642

Toxicidad del agua de producción hidrocarburífera sobre el pez *astyanax abramis* (jenyns 1842).

Héctor Regidor¹ y Juan Guzmán Cieri²

¹ Cátedra de Evaluación de Impacto Ambiental, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta. Argentina

² Subsecretario de Relaciones con la comunidad del Gobierno de la Provincia de Alta.

haregidor@gmail.com.ar; jgusmancieri@gmail.com

Resumen

El agua de producción es el principal residuo generado por la actividad hidrocarburífera, responsable de la mayor parte de los derrames por su elevada salinidad. En este trabajo se determinó la toxicidad del agua de producción sobre *Astyanax abramis*, un pez de clima subtropical, bentopelágico, que puede encontrarse en casi todo tipo de ambientes lenticos del Noroeste de Argentina, a los efectos de emplear los resultados como indicadores ante derrames. La evaluación se efectuó mediante la exposición de individuos a diferentes concentraciones de agua de producción, realizándose una prueba de intervalo de toxicidad y otra de toxicidad aguda. Concentraciones de agua de producción por encima de 7,5% resultaron mortales para el 100% de los ejemplares expuestos. El valor de concentración letal media CL_{50} es igual a 4,76%.

Palabras clave: agua de producción; bioensayo; intervalo de toxicidad; toxicidad aguda; *astyanax abramis*

Toxicity of oil water production over the fish *astyanax abramis* (jenyns 1842).

Abstract

Produced water is the main waste generated by oil and gas activity, responsible for the majority of spills by the high salinity. This study determined the toxicity of produced water on *Astyanax abramis*, a freshwater fish of subtropical climate, benthopelagic, which can be found in almost all types of lentic environments of Northwest Argentina, for the purpose of using the results as indicators to spills. The evaluation was performed by exposing individuals to different concentrations of water production, performing a test of toxicity range and another of acute toxicity. Produced water concentrations above 7,5% were mortal to 100% of individuals exposed. The average mortality LC50 value was equal to 4,76%.

Keywords: water production; bioassays; toxicity range; acute toxicity; *astyanax abramis*.

Introducción

A lo largo de la historia, las actividades antrópicas han generado sustancias contaminantes que han ocasionado el deterioro de los componentes ambientales, incluyendo el agua, el aire y el suelo, así como también de la biota asociada y por ende, de los ecosistemas. Los efectos de los contaminantes dependen de la concentración en la que se encuentren estas sustancias, de su persistencia y de su biodisponibilidad, pudiendo ocasionar desde consecuencias no letales, como el desplazamiento temporal de algunas especies, hasta la muerte de poblaciones enteras.

En la actualidad, aumenta la preocupación a nivel internacional con respecto a la exposición de los organismos a compuestos de alta toxicidad. Son numerosos los países que han comenzado a realizar bioensayos para determinar las concentraciones letales de estos compuestos, a fin de contar con parámetros de supervivencia (o mortandad) para la estimación de concentraciones riesgosas para el medio y sus organismos, empleando sobre todo a peces y anfibios. Es recomendable realizar estos ensayos bajo condiciones y con especies locales, de modo de desarrollar parámetros representativos para cada región, que puedan brindar un aporte sustancial a la toma de decisiones en materia ambiental.

El principal residuo generado por la actividad hidrocarburiífera es el agua de producción, responsable

además de la mayoría de los derrames ocurridos en las instalaciones productivas debido a que por su elevada salinidad (del orden de 150000 mg/L), y en algunos casos, la presencia de trazas de metales pesados, tiene un alto poder corrosivo [2].

El agua de producción es un contaminante ideal, con la misma gravedad específica de la capa acuífera, potencial fuente de alimentación de la capa freática, y con una movilidad equivalente y fácilmente mezclable con el agua dulce de la capa freática. En consecuencia, es un potencial contaminante de cuerpos de agua superficial. Sin embargo, no existen hasta el momento antecedentes del grado de toxicidad del agua de producción.

La Asociación Regional de Empresas de Petróleo y Gas Natural en Latinoamérica y El Caribe [2] propone la utilización de bioensayos de supervivencia/mortandad de peces como norma para evaluar la toxicidad de residuos de la explotación hidrocarburiífera. Un bioensayo, o ensayo de toxicidad, es el uso de un organismo vivo como un agente de prueba para la presencia o concentración de un compuesto químico o un efecto ambiental [4]. Los organismos mayormente utilizados para bioensayos son los peces por su ubicación y función en los sistemas acuáticos, ya que además de ocupar diferentes posiciones tróficas en los ecosistemas son normalmente considerados buenos representantes de los organismos de mayor complejidad [8].

Astyanax abramis (Jenyns 1842) es conocida por sus nombres comunes como mojarra, mojarra pacusa o

mojarra matrera. Es una especie de clima subtropical, bentopelágica, que puede encontrarse en casi todo tipo de ambientes lénticos del Centro y Norte de Argentina [2]; [9]; [7]. Está considerada una especie común, de amplia distribución y baja vulnerabilidad, para la cual no se registran amenazas directas sobre su supervivencia [3]. Dada su amplia distribución en zonas con actividad hidrocarburífera del Noroeste de Argentina [5], el objetivo del presente trabajo fue determinar los valores de concentraciones tóxicas del agua de producción sobre *Astyanax abramis*, a los efectos de emplear los resultados como indicadores de calidad del agua ante potenciales derrames.

Materiales y métodos

La evaluación de la toxicidad se efectuó mediante la exposición de mojarra a diferentes concentraciones de agua de producción, colocando las mismas en 10 botellas experimentales, con una capacidad de 6 L cada una. Los ejemplares utilizados provinieron de una zona libre de producción de hidrocarburos, por lo que los organismos cumplen con la premisa de no haber sido expuestos al agua de producción previamente. Solo se utilizaron para las pruebas ejemplares con una longitud estándar entre 3,5 cm y 7 cm, por ser estas tallas las que presentaban mayor supervivencia al traslado y alimentación.

El agua de producción empleada en el ensayo presenta una densidad de 1,08 g/cm³, pH igual a 6,17, elevada conductividad eléctrica (190 mS/cm), altas concentraciones de sodio y cloruros, concentraciones de metales pesados no detectables por el análisis del laboratorio, ausencia de hidrocarburos totales de petróleo y fuerte poder corrosivo, reuniendo las características generales de las aguas de producción residuales de los yacimientos hidrocarburíferos de la Cuenca Noroeste de Argentina.

Siguiendo a Alcaráz Zubeldía *et al* [1] y Jofré *et al* [10], la metodología requirió de dos etapas complementarias:

1. *Prueba de Intervalo de Toxicidad*: destinada a determinar el rango de toxicidad a medir, en función de la hipótesis de que es poco probable la subsistencia de mojarra a grandes concentraciones (superior a 10%) de agua de producción. Esta prueba se llevó a cabo con la finalidad de descartar concentraciones muy elevadas, y obtener el valor de *concentración mínima letal*, es decir, la menor concentración de agua de producción que produce el 100% de mortandad.

2. *Prueba de toxicidad aguda*: basados en la Prueba de *intervalo de toxicidad*, y tratándose de un ensayo sin antecedentes locales, se plantearon las concentraciones en función de la concentración *mínima letal*, empleándose concentraciones de 3,5, 4,5, 5,5 y 6,5% de agua de producción.

En ambas pruebas se incorporó una prueba negativa testigo (con 0% de agua de producción) con control de mortandad, para la validación del ensayo, realizándose 4 réplicas de cada tratamiento.

Para la Prueba de toxicidad aguda se establecieron las condiciones expuestas en la Tabla 1.

Tabla 1. Características del ensayo de toxicidad aguda

Tipo de prueba	Estática, sin renovación de solución.
Duración	96 horas.
Medición de mortandad	A 1, 3, 6, y 12 horas del inicio del ensayo, y posteriormente cada 12 horas.
Fotoperíodo	12 horas de luz y 12 horas de oscuridad aproximadamente.
Suministro de alimento	No hubo. Se suspendió 24 horas antes y durante la prueba.
Repeticiones	4 por concentración.
Aireación	Con aireación y medición de oxígeno disuelto. Valores recomendables de 7 a 9 mg/L.
Efecto medido	Mortalidad o inmovilidad a 96 horas
Individuos por pecera	10 individuos en prueba de toxicidad aguda y 5 individuos en la de intervalo de toxicidad.
Datos complementarios de control	pH, oxígeno disuelto, temperatura, conductividad eléctrica
Criterio de validación de prueba	<ul style="list-style-type: none"> Inmovilidad o mortalidad en los testigos menor a 10% a 96 horas. La variabilidad entre réplicas no excede el 20%.

1. La adición de las soluciones en todas las pruebas se efectuó de manera muy lenta y suave para evitar la exposición de los organismos a una elevada concentración de la solución madre, asegurando la completa mezcla del compuesto tóxico en el medio y cuidando de no estresar a los organismos expuestos, simulando una descarga accidental en condiciones naturales. Antes y durante las pruebas se controlaron

diariamente temperatura del agua, pH, oxígeno disuelto y conductividad eléctrica, empleando un multímetro HORIBA® Water Quality Checker U – 10. La toxicidad se determinó a través de la Concentración Letal Media, CL_{50} , que representa la concentración de la sustancia evaluada que produce el 50% de mortandad de los organismos expuestos. Para la determinación de CL_{50} se utilizó el programa libre BIOSTAT 2007, el cual cuenta con el desarrollo de dos procesos complementarios, el primero es el Análisis Probit, propuesto por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos [11], que obtiene como resultado un valor de Concentración Letal Media, y que se complementa con un segundo proceso que ajusta el valor obtenido por el primer análisis, a través de una regresión lineal, con comprobación automática de Chi Cuadrado, obteniéndose así un valor de CL_{50} más representativo. En este caso, la estimación se realiza a través de la relación de la respuesta (mortalidad) en función del logaritmo en base 10 del estímulo (dosis).

Para los análisis no se consideraron los grupos testigos ni las concentraciones o tiempos en que la supervivencia fue 100%, como tampoco las concentraciones que presentaron 100% de mortalidad. Las variables empleadas fueron: a) la dosis, es decir la concentración porcentual de agua de producción testeada en el procedimiento; b) el efecto, considerado como el recuento de animales muertos para cada concentración al final del periodo de exposición; y c) el tamaño, referido al total de animales por ensayo, en este estudio de 10 individuos por pecera. En todos los casos, se ingresaron en el software, por requerimientos del mismo, los promedios de mortandad de todas las réplicas, expresados en números enteros.

Finalmente, para poder caracterizar la solución con la concentración de CL_{50} estimada, se preparó la misma, registrándose pH y conductividad eléctrica, a efectos de poder aplicar y extrapolar los resultados a situaciones en el campo.

Resultados y discusión

Prueba de Intervalo de toxicidad

La prueba de *Intervalo de toxicidad* resulta necesaria debido a que cuando se carece de información relativa sobre la toxicidad de una sustancia problema, se recomienda efectuar una serie de diluciones a partir de la sustancia madre original (concentración de 100%), con el objeto de encontrar las concentraciones por encima de 0% y por debajo del 100% de mortandad, con el fin de evitar datos inútiles en el procesamiento de los resultados.

A los efectos de poder establecer el rango a testear como intervalo de toxicidad, se realizó una prueba inicial con una concentración del 10% de la sustancia problema sobre la capacidad de la botella experimental. Para esta concentración se produjo una mortandad de 100% a las 12 horas de iniciado el ensayo. Conociendo este valor, se emplearon diluciones menores al mismo a fin de hallar la concentración que produce una mortandad del 100%, pero empleando un tiempo total de 96 horas, similar al de la duración de los ensayos de toxicidad aguda (Tabla 2). Una concentración de agua de producción de 7,5% produjo una mortalidad total de 100% en 96 horas.

Tabla 2. Resultados de la prueba de intervalo de toxicidad del agua de producción sobre *Astyanax abramis*

% de agua de producción	pH	Temperatura (°C)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Conductividad eléctrica (mS/cm)	Mortandad
0%	8,80	23,9	8,35	0,367	0%
2,5%	8,36	23,8	8,45	11,2	0%
5,0%	8,30	23,9	8,31	21,6	40 – 60%
7,5%	7,97	24,4	9,06	28,9	100%
10,0%	7,50	24,3	8,36	35,9	100%

En función de este resultado, se estableció el intervalo a utilizar en la prueba de toxicidad aguda, empleándose concentraciones entre 3,5% y 6,5% de agua de producción.

Prueba de Toxicidad aguda

Las concentraciones de agua de producción para esta prueba fueron 3,5%, 4,5%, 5,5% y 6,5% de agua de producción, registrándose una mortalidad promedio que varió entre 20% y 92,5% (Tabla 3). La mortalidad de los testigos fue inferior al 10% del total de los peces en todas las botellas.

Tabla 3. Evaluación de mortandad en la prueba de toxicidad aguda del agua de producción sobre *Astyanax abramis*

Réplica	Concentración testeada			
	6,5%	5,5%	4,5%	3,5%
	Mortandad observada			
1	90%	70%	20%	10%
2	100%	60%	30%	30%
3	90%	70%	30%	20%
4	90%	80%	40%	20%
Mortandad Promedio ± desvío estándar	92.5 ± 5,0%	70 ± 8,2%	30 ± 8,2%	20 ± 8,2%

Los resultados del ensayo se resumieron en la Tabla 4, empleándose esta información en el Programa BIOSTAT en la obtención de CL_{50} .

Tabla 4. Tabla de ingreso de datos al Programa Biostat para la estimación de la curva de letalidad media en la prueba de toxicidad aguda del agua de producción sobre *Astyanax abramis*

Dosis	Peces muertos	Tamaño del lote	% mortandad
6,5%	9	10	90%
5,5%	7	10	70%
4,5%	3	10	30%
3,5%	2	10	20%

Como resultado del análisis Probit, se estimó una concentración letal media $CL_{50} = 4,87\%$. La Figura 1 presenta la respuesta (mortandad) en función del estímulo (dosis).

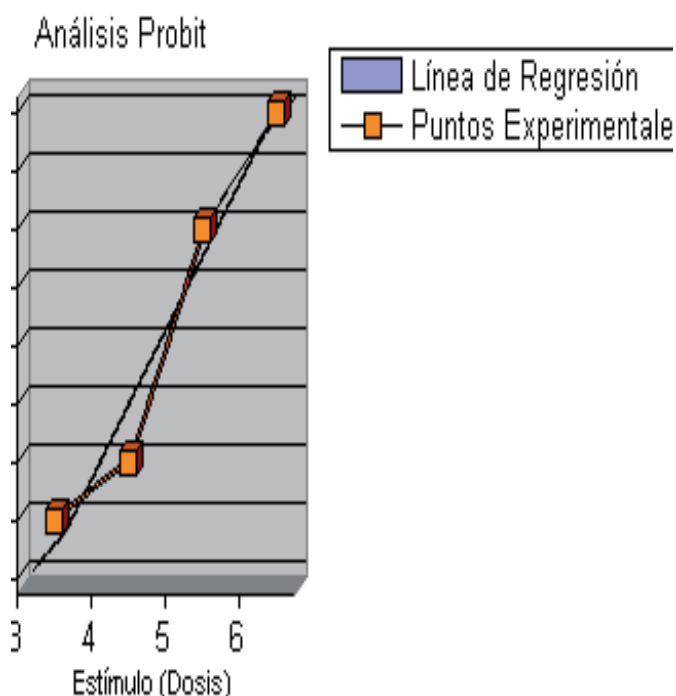


Figura 1. Respuesta (% de mortandad) vs. estímulo (dosis de agua de producción en %) en la prueba de toxicidad aguda del agua de producción sobre *Astyanax abramis*

Finalizado el análisis Probit, se ejecutó la corrección y ajuste del valor obtenido, resultando la concentración letal media $CL_{50} = 4,76\%$ (Figura 2).

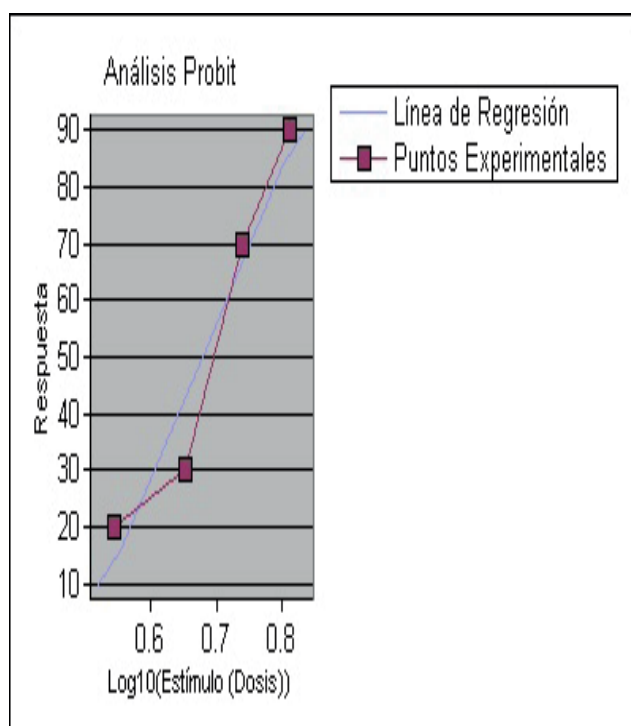


Figura 2. Ajuste de CL_{50} por el método de regresión lineal para la prueba de toxicidad aguda del agua de producción sobre *Astyanax abramis*

La concentración de agua de producción que corresponde a CL_{50} presenta un pH igual a 7,67 y conductividad eléctrica de 22,1 mS/cm.

Si bien en la literatura son numerosos los ensayos de toxicidad para diferentes especies de peces y contaminantes [10]; [11]; [12]; no se han realizado experiencias con especies nativas de Argentina ni se conocen antecedentes recientes de ensayos con agua de producción, a excepción del trabajo realizado por Niewolski [13] con *Hoplosternum littorale*, una especie muy común en humedales del noroeste de Argentina, para la cual la concentración de agua de producción que corresponde a la concentración letal media CL_{50} es 2,60%, la mitad del valor estimado en este trabajo para *Astyanax abramis*, evidenciando la dificultad de extrapolar resultados y la necesidad de continuar trabajando con especies locales.

Consideraciones finales

Considerando la información del bioensayo es posible ante una contingencia de derrame de agua de producción que alcance cuerpos de agua superficiales, conocer los valores de salinidad y conductividad eléctrica a medir en la zona de descarga que producirán una mortandad del 50% en la población de peces expuesta en el cuerpo receptor.

Asimismo, en mediciones luego de un derrame, la presencia de individuos de *A. abramis* en los ambientes acuáticos alcanzados servirá como indicador del grado de afectación de su calidad de agua.

Referencias

- [1] ALCARAZ ZUBELDIA, Guillermina; BADILLO, Maribel; VANEGAS PÉREZ, Cecilia. (2008). Ensayo de Toxicidad aguda con el pez *Xiphophorus Montezumae*. En: **Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México.** (RAMÍREZ ROMERO, Patricia; MENDOZA CANTÚ Ania, Ed.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). México, 127-138.
- [2] ARPEL (Asociación Regional de Empresas de Petróleo y Gas Natural de América y El Caribe). (2009). **Disposición y Tratamiento del agua Producida.** Uruguay, p. p. 120.
- [3] CAPPATO, Jorge; YANOSKY, Alberto (Ed). (2009). **Uso Sostenible de Peces en la Cuenca del Plata. Evaluación Subregional del Estado de Amenaza, Argentina y Paraguay.** UICN -GUYRA- Proteger, Argentina, p. p. 76.
- [4] DÍAZ BÁEZ, María Consuelo; BUSTOS LÓPEZ, María; ESPINOSA RAMÍREZ, Adriana. (2004). **Pruebas De Toxicidad Acuática: Fundamentos y Métodos.** Colombia, p. p. 118.
- [5] GONZO, Gladys. (2003). **Peces de los ríos Bermejo, Juramento y Cuencas Endorreicas de la Provincia de Salta.** Museo de Cs. Naturales y CIUNSA. Argentina, p. p. 243.
- [6] LÓPEZ, Hugo; MORGAN, Cecilia; MONTENEGRO, Marcelo. (2002). **Ichthyological Ecoregions of Argentina.** Probiota, Universidad Nacional de La Plata. Argentina, p.p. 68.
- [7] LÓPEZ, Hugo.; MIQUELARENA, Amalia; MENNI, Roberto. (2003). **Lista comentada de los peces continentales de la Argentina.** Probiota, Universidad Nacional de La Plata. Serie Técnica y Didáctica N° 5: 1-86.
- [8] MARTÍNEZ JERÓNIMO, Felipe; ESPINOSA CHÁVEZ, Félix. (2008). **Ensayo de toxicidad aguda con larvas y juveniles de los peces *Brachydanio rerio* y *Poecilia reticulata*.** En: **Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México.** (RAMÍREZ ROMERO, Patricia; MENDOZA CANTÚ Ania, Ed.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat). México, 114-126.
- [9] RINGUELET, Raúl. (1975). Zoogeografía y Ecología de los peces de aguas continentales de la Argentina y consideraciones sobre las áreas ictiológicas de América del Sur. **Ecosur** Vol. 2 N°3: 1-122.
- [10] JOFRÉ, Diego; GERMANÓ GARCÍA, María; SALCEDO, Rodrigo; MORALES, Mirta; ALVAREZ, María; ENRIZ Daniel; GIANNINI, Fernando. (2013). Fish Toxicity of Commercial Herbicides Formulated With Glyphosate. **Journal Environ. Anal Toxicology**, Vol. 4 N° 1: 1-3.
- [11] RUEDA-JASSO, Rebeca; DE LOS SANTOS BAILÓN, Alejandra.; FUENTES FARÍAS, Ana; GUTIÉRREZ-OSPINA, Gabriel. (2014). Toxicidad letal y subletal del fosfato de sodio dibásico y efectos en branquias y conducta de las crías del pez goodeido *Skiffia multipunctata*. **Hidrobiológica**, Vol. 24 N° 3: 207-214.
- [12] C. Veciana Galindo, E. Cortés Castell, L. Torro Montell, E. Sirvent Segura, M. M. Rizo Baeza y V. Gil Guillén. (2014). Evaluación de la citotoxicidad y bioseguridad de un extracto de polifenoles de huesos de aceitunas. **Nutrición Hospitalaria** 29(6):1388-1393.
- [13] NIEWOLSKI, Adrián. (2012). Ensayo de toxicidad del agua de producción de explotaciones hidrocarbúferas sobre la especie *Hoplosternum littorale*. **Tesis Ingeniería en Recursos Naturales y Medio Ambiente**, Universidad Nacional de Salta. 40 pag.



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

Multiciencias

Vol 15, N° 2

Edición por el Fondo Editorial Serbiluz.

Publicada en junio de 2015.

Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela

www.luz.edu.ve

www.serbi.luz.edu.ve

produccioncientifica.luz.edu.ve