

## TOXICIDAD SOBRE ALGAS AISLADAS DEL RIO URUGUAY

Storino A\*, Parise C., Planes E.

INTI-Química

\*astorino@inti.gov.ar

### OBJETIVO

Los estudios de toxicidad empleando algas unicelulares se encuentran entre los más utilizados para la evaluación de la ecotoxicidad de efluentes, cursos de agua contaminados, sustancias químicas; además son una herramienta para establecer las regulaciones ambientales relativas a las sustancias y compuestos químicos.

Las autoridades de control ambiental asignan diferentes usos para los cuerpos de agua superficiales, por ejemplo, fuente de provisión de agua para consumo humano y agua para preservación de flora y fauna acuática.

Para cada uso asignado se establecen niveles guía. Los niveles guía de calidad de agua para protección de vida acuática son las concentraciones de sustancias o de compuestos químicos que, si no se superan, no se espera que se produzcan efectos adversos sobre los organismos acuáticos en el ecosistema. Se establecen para cada sustancia o compuesto químico empleando información que proviene de resultados obtenidos a partir de ensayos de toxicidad realizados con organismos de distintas especies, también llamados ensayos de ecotoxicidad. Se selecciona el valor de concentración que proteja a la mayoría de las especies. Estos niveles guía se revisan periódicamente de manera de incorporar los nuevos conocimientos que pudieran modificar estos valores.

Una vez establecidos, se limitan las cantidades de sustancias tóxicas que se pueden verter a ese cuerpo de agua para no deteriorar su calidad (límites de vuelco de efluentes).

Las algas son componentes esenciales en los ecosistemas acuáticos. En particular las algas verdes unicelulares tienen altas tasas metabólicas y juegan un rol esencial para la producción primaria en el ecosistema, por lo que es muy importante fijar las concentraciones en el ambiente que no afecten su desarrollo.

Los resultados obtenidos realizando ensayos con especies que se encuentran presentes en el país son relevantes para desarrollar a nivel nacional los niveles guía de calidad de agua para protección de vida acuática.

En trabajos anteriores, en nuestro laboratorio se aisló una cepa de alga a partir de agua del

Río Uruguay y se verificó la aptitud de esa cepa para realizar los ensayos.

En el presente trabajo se realizaron ensayos de toxicidad con cobre. Se eligió el cobre dado que es un contaminante muy común en ambientes acuáticos. (1). El cobre en concentraciones traza es un micronutriente esencial para el metabolismo de las algas, pero en concentraciones más altas se ha demostrado que causa efectos adversos sobre el crecimiento y la fotosíntesis. (2)

### DESCRIPCIÓN

En una primera etapa se estudió el crecimiento del alga aislada dado que es necesario que el inóculo para el ensayo se encuentre en la fase exponencial. Se realizaron curvas de crecimiento en un medio de cultivo sintético a 24° C, bajo luz blanca continua.

El comienzo de la fase exponencial se observó a partir de los 7 días de incubación y se mantuvo hasta el día 12 de incubación (Figura 1).

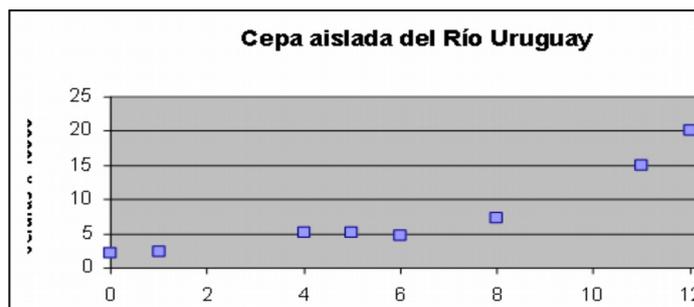


Figura 1: Curva de crecimiento de algas aisladas del Río Uruguay

Se realizó el ensayo de toxicidad con cobre siguiendo los lineamientos de la norma IRAM 29111 (3). Se prepararon soluciones con distintas concentraciones de cloruro de cobre, conteniendo entre 45 y 5 µg/l de Cu<sup>2+</sup>, las cuales se inocularon con algas de un cultivo en fase exponencial, alcanzando una densidad celular inicial de 15.000 células por mililitro.

Se incubaron durante 72 hs a 24° C, bajo luz blanca continua. Al finalizar el período de incubación se realizó el conteo de algas en cámara de Neubauer (Foto 1)

La concentración de cobre de la solución a partir de la cual se prepararon las distintas diluciones se determinó por espectrometría de absorción atómica.

Se determinó para cada concentración la tasa de crecimiento específica y la inhibición de la tasa de crecimiento respecto del control; se calculó por interpolación lineal la concentración inhibitoria 50 (CI50), que es la concentración de cobre que inhibe en un 50% la tasa de crecimiento respecto del control. Se estimó el valor de NOEC (mayor concentración ensayada a la cual no se observan efectos significativamente diferentes respecto del control). (Foto 2, ensayo).

### **RESULTADOS**

La Concentración Inhibitoria 50 fue de 24  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Cu}^{2+}$  y el NOEC estimado fue de 12  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Cu}^{2+}$ .

El valor de nivel guía propuesto para cobre (1) es menor de 6,6  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Cu}^{2+}$ .

La cepa de alga empleada para realizar ensayos normalizados es *Pseudokirchneriella subcapitata*. Los resultados reportados en la bibliografía para la toxicidad crónica (NOEC) del cobre para esta cepa es de 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Cu}^{2+}$ . (4)

La toxicidad del cobre se evaluó sobre otras especies de algas verdes unicelulares aisladas de la cuenca Matanza-Riachuelo (2) dando como resultado un valor para la concentración inhibitoria 50 de 72 de  $\mu\text{g L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  para la especie más sensible. Este resultado es esperable, dado que la cuenca está muy contaminada y las especies presentes en ese cuerpo de agua desarrollan naturalmente resistencia.

### **CONCLUSIONES**

La cepa aislada resultó más sensible al efecto del cobre que la cepa normalizada y mucho más sensible que las especies aisladas de la cuenca Matanza-Riachuelo, por lo tanto el ensayo desarrollado con esta cepa es útil para evaluar muestras ambientales.

El valor de NOEC obtenido como resultado del ensayo de toxicidad es muy cercano al del nivel guía, por lo que esta especie quedaría también protegida con el nivel actual.

### **BIBLIOGRAFÍA**

- (1) Argentina, Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación, "Desarrollo de niveles guía nacionales de calidad de agua ambiente correspondientes a cobre", 2005.
- (2) Magadalen, A., Vélez, C., Wenzel, M.T., Tell, G. "Efectos on Cadmium, Copper and Zinc on Grwoth of four isolated Algae from a Highly Polluted Argentina River", Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 91 (6), 2013.
- (3) Instituto Argentino de Normalización y Certificación, IRAM 29111:2006. *Método de ensayo de inhibición del crecimiento de algas verdes unicelulares de agua dulce.*
- (4) Soto, P., Gaete, H., Hidalgo, M.E., "Assessment o catalase activity, liquid peroxidation,

chlorophyll-a and growth rate in the freshwater green algae *Pseudokirchneriella subcapitata* to copper and zinc", Lat. Am. J. Aquat. Res., 39 (2), 2011

### **AGRADECIMIENTO**

El equipamiento utilizado para la realización de este trabajo se recibió en el marco del proyecto Econormas-Mercosur.

Los autores agradecen a Christian Salamone por la determinación de cobre por absorción atómica.



Foto 1: observación del alga al microscopio óptico (40x)



Foto 2: ensayo de toxicidad con cobre