



# Evaluación de la ecotoxicidad del agua y sedimento en la zona interna del estuario de Bahía Blanca

Estudio llevado a cabo en el marco del Convenio (Decreto N° 955/2015) entre la Municipalidad de Bahía Blanca y el Instituto Argentino de Oceanografía (IADO – CONICET / UNS)



***Coordinadora:* Dra. Elisa R. Parodi**

CONICET - CCT - B Bca - IADO

UNS – Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

***Investigadoras:***

**Dra. María Cecilia Gauna**

CONICET - CCT - B Bca - IADO

**Dra. Carolina Fernández**

CONICET - CCT - B Bca - IADO


UPSO

**Dra. María Emilia Croce**


CONICET - CCT - B Bca - IADO

# Introducción General





La actividad humana genera grandes cantidades de desechos que son liberados al ambiente, ingresando a los diferentes compartimentos de los ecosistemas, aire, agua, suelo o biota, dependiendo su destino de las propiedades fisicoquímicas, movilidad y persistencia de los compuestos presentes.



Cuando los desechos son vertidos a un cuerpo de agua, sus componentes pueden integrarse a la fase acuosa o a la fase particulada que llega a los sedimentos a lo largo del tiempo.


De esta manera los sedimentos se comportan como aceptores finales de compuestos pudiendo actuar como fuentes secundarias de contaminación y pueden ser resuspendidos de forma natural por:

- procesos físicos o biológicos (bioturbación)
- actividad humana (dragado)

El creciente impacto ambiental de las actividades humanas ha favorecido el desarrollo de una disciplina basada en la toxicología y la ecología:

## **ECOTOXICOLOGÍA**

Estudia y analiza los efectos de agentes químicos y físicos sobre organismos vivos, con particular atención a poblaciones y comunidades de ecosistemas definidos.



Ha sido recomendada como herramienta indispensable en las evaluaciones de impacto ambiental y en la obtención de autorizaciones gubernamentales para realizar actividades productivas.

- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
- Organización Mundial de la Salud.

Actualmente la biotecnología ofrece herramientas probadas y confiables como los:

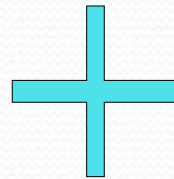
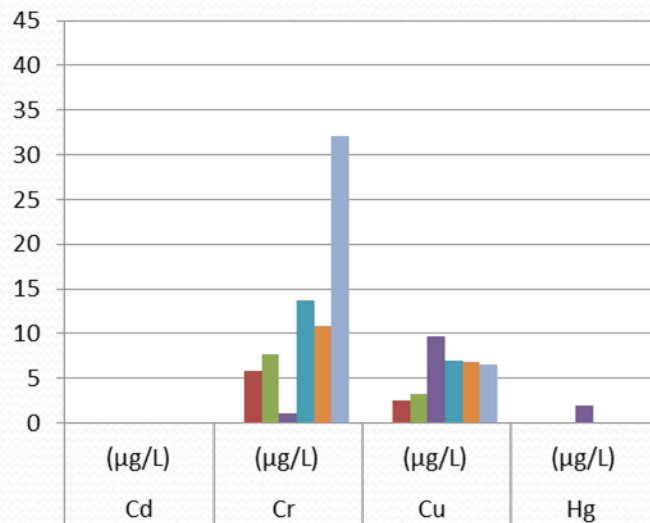
## **BIOENSAYOS**



Estos permiten evaluar mediante un conjunto de técnicas, los efectos producidos por diversas sustancias presentes en el ambiente en distintos organismos testigo, a través de su sensibilidad a los mismos.



El objetivo de los **bioensayos** es obtener información complementaria a la brindada por la analítica clásica, ya que los mismos permiten evaluar los efectos producidos tanto por un elemento o sustancia individual, como los inducidos (sinérgicos, aditivos o antagónicos) por una mezcla compleja de sustancias.



Durante un **bioensayo** se procede a la observación y registro de diferentes parámetros biológicos:

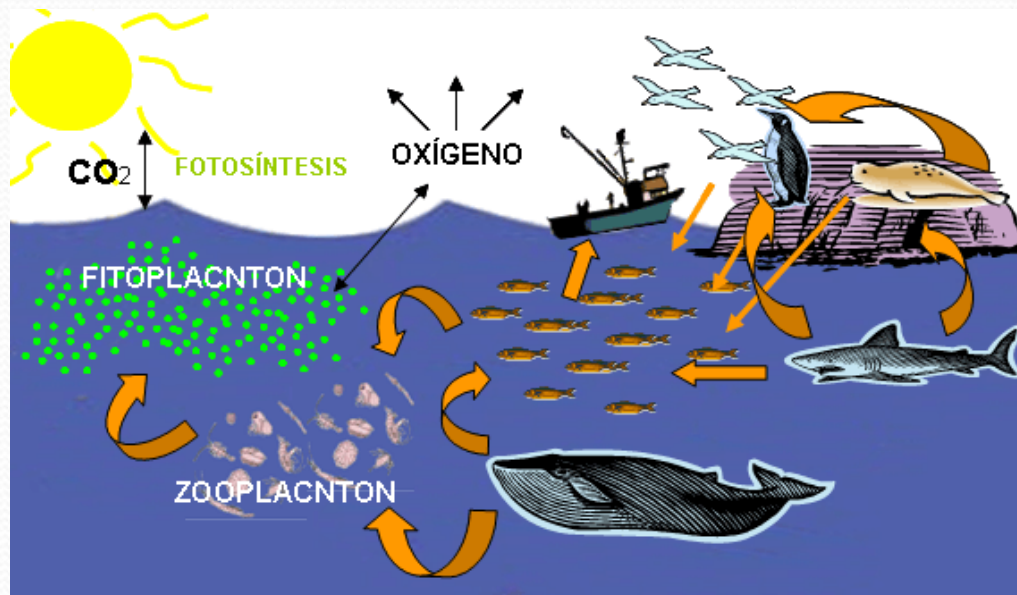
- crecimiento,
- proliferación,
- multiplicación,
- cambios fisiológicos
- cambios morfológicos

Los efectos pueden manifestarse a diferentes niveles:

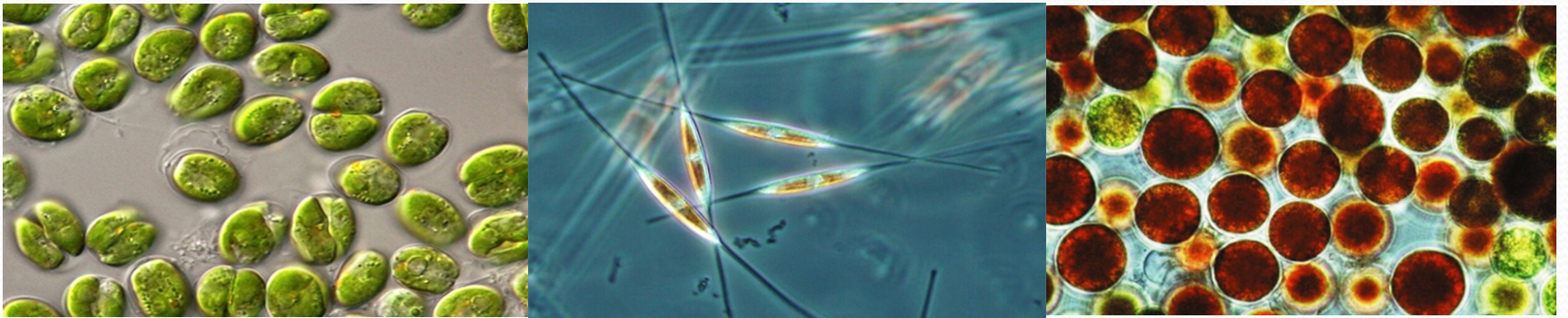


Los organismos más empleados para realizar biomonitoreo de ambientes acuáticos son las **microalgas** porque:

- determinan la productividad,
- representan el inicio y sustentan el desarrollo de los restantes niveles de las redes tróficas de los ecosistemas acuáticos



En todos los ambientes acuáticos,




**Un cambio en las microalgas, sea cualitativo o cuantitativo repercute en todo el ecosistema.**



Es por ello,

que resulta importante evaluar los efectos sobre este grupo de organismos.

Principalmente los efectos inhibitorios que pueden producir compuestos tóxicos presentes en el agua sobre la tasa de crecimiento poblacional de **microalgas**.



Para este primer estudio de la “Evaluación ecotoxicológica del agua y sedimento de la parte interna de estuario de Bahía Blanca” se propusieron:

# Objetivo General

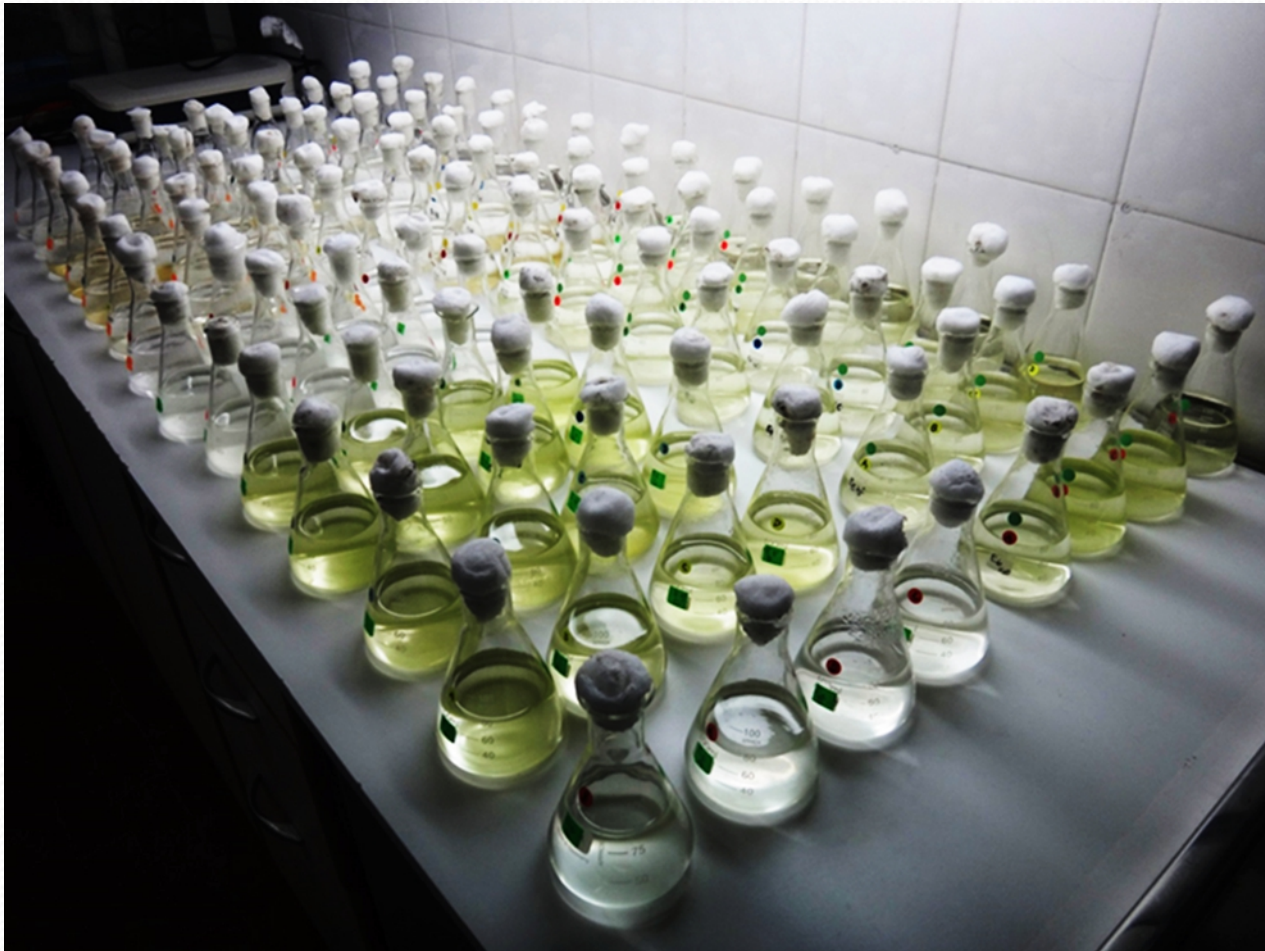
Analizar la respuesta del eslabón inicial de la cadena trófica del estuario de Bahía Blanca ante las variaciones de la calidad del agua, aportando los primeros datos sobre niveles de peligrosidad trasladables y asimilables a otros organismos para establecer, a futuro, niveles guía de protección del ambiente estuarial.

# Objetivos Específicos

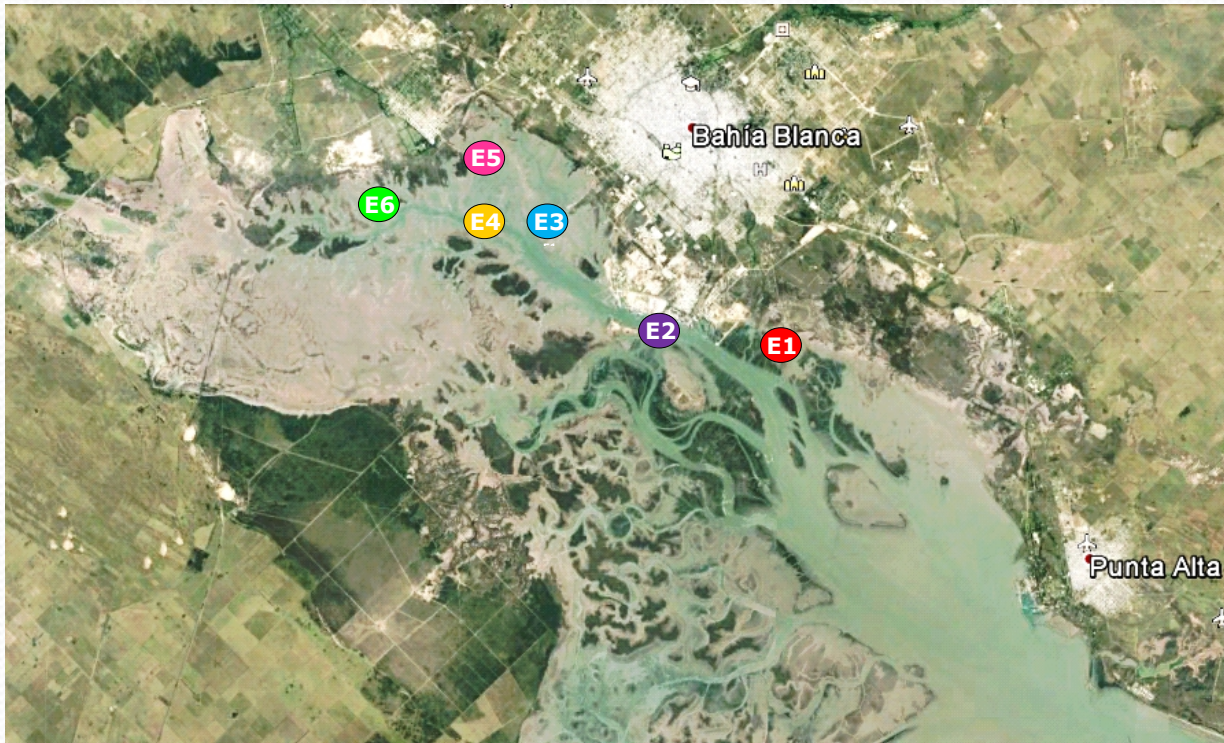
- A. Desarrollo y estandarización de metodologías para la realización de bioensayos**
  
- B. Determinación de la ecotoxicidad del agua y elutriado del sedimento del estuario de Bahía Blanca mediante bioensayos con microalgas.**
  - Evaluar la toxicidad de muestras de agua y elutriado del sedimento sobre dos microalgas planctónicas.
  - Analizar la dinámica de crecimiento y el estado fisiológico de las dos microalgas como indicadores de ecotoxicidad.
  - Identificar sitios y momentos sensibles que pudieran requerir intervención y/o manejo en futuros programas de gestión.



# Metodología



Muestras de agua y sedimento fueron colectadas :



(1°M-jun'15)

(2°M-sep'15)

(3°M-dic'15)

(4°M-mar'16)

**E1:** desembocadura cloacal BB (CLO)

**E2:** Ingeniero White (IW)

**E3:** Canal Galván, proximidades del Polo Petroquímico (cPG)

**E4:** Maldonado (M)

**E5:** desembocadura cloacales 3ra. Cuenca (3°C)

**E6:** Puerto Cuatreros (PC)

Para la realización de los bioensayos se siguieron normativas establecidas por:

- US EPA (United States Environmental Protection Agency): Ecological Effects Test Guidelines
- OCSP 850.4500: Algal Toxicity Ecological Effects Test Guidelines
- OPPTS 850.1000: Special Considerations for Conducting Aquatic Laboratory Studies
- ASTM: E 1218 – 04 Standard Guide for Conducting Static Toxicity Tests with Microalgae

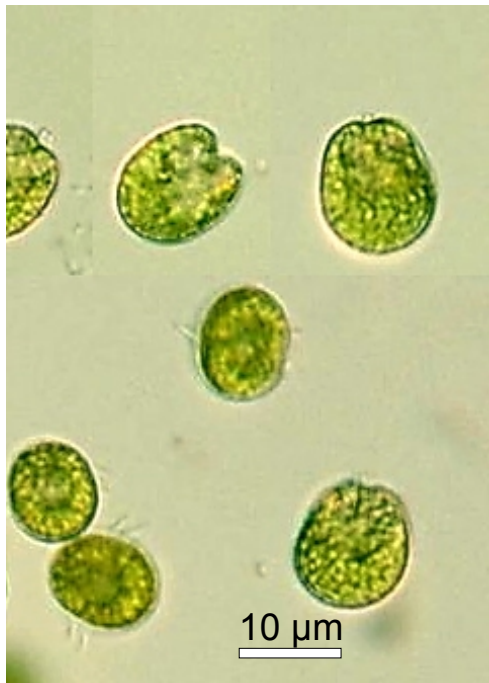
El desarrollo de bioensayos con organismos **nanofitoplanctónicos** ( $\sim 10 \mu\text{m}$ ) que constituyen la base de la trama alimentaria de larvas de moluscos, artrópodos y peces como así también de moluscos filtradores frente a contaminantes presentes en el sistema, permite el análisis de respuestas:

- *Poblacionales* a través de la **tasa de crecimiento**, en base a variaciones de la densidad de organismos.

- *Morfofisiológicas* mediante un parámetro que referencia el **estado fisiológico** de los organismos como la concentración de clorofila “a”.

Los bioensayos se realizaron con:

*Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher



Agua



Elutriado del  
sedimento

*Nitzschia* aff. *kuetzingioides* Hustedt



Agua

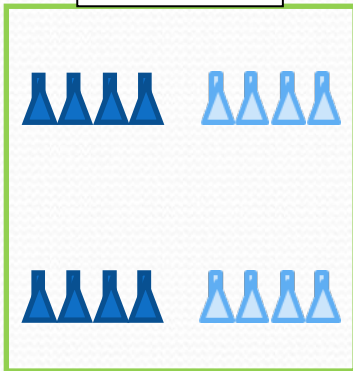


Elutriado del  
sedimento

# Bioensayos con agua del estuario



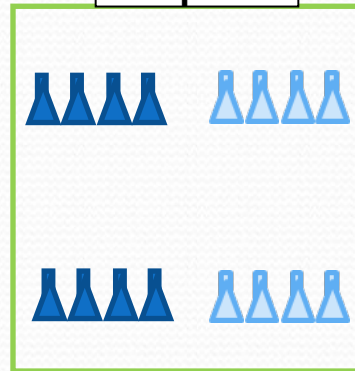
Jun'15



Controles

Sitios de  
muestreo  
E1 - E2 - E3  
E4 - E5 -E6

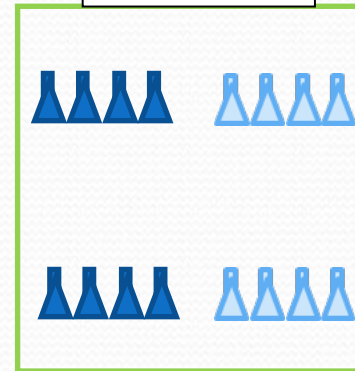
Sep'15



Controles

Sitios de  
muestreo  
E1 - E2 - E3  
E4 - E5 -E6

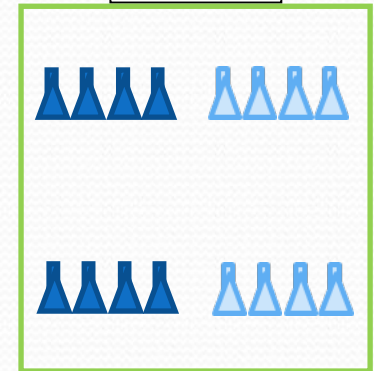
Dic'15



Controles

Sitios de  
muestreo  
E1 - E2 - E3  
E4 - E5 -E6

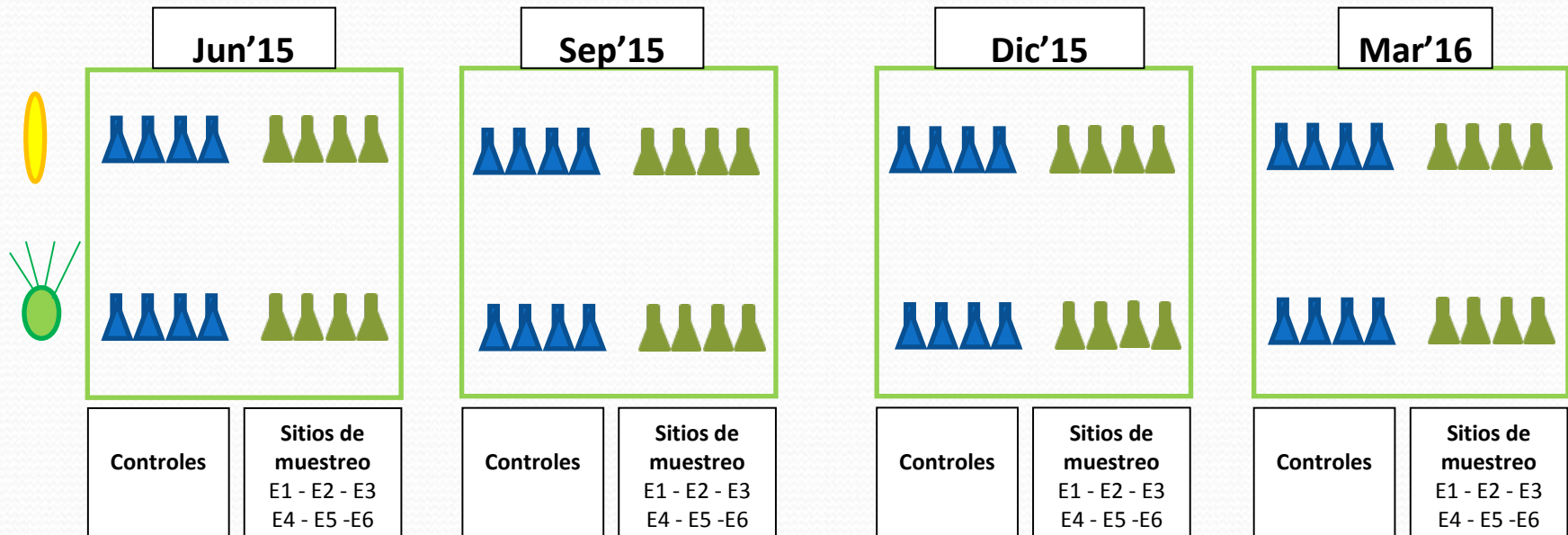
Mar'16



Controles

Sitios de  
muestreo  
E1 - E2 - E3  
E4 - E5 -E6

# Bioensayos con elutriado del sedimento del estuario



***Elutriado o lixiviado*** : extracto acuoso de los sedimentos

## Condiciones de los bioensayos

- Los bioensayos fueron estáticos, sin renovación de la solución de prueba y realizados siempre con soluciones acuosas.
- Temperatura:  $18 \pm 1^\circ\text{C}$
- Inóculo inicial 10.000 células/ml.





## Condiciones de los bioensayos

- Iluminación continua proporcionada por lámparas “luz de día”.
- Para evitar sesgos por efectos diferenciales en la iluminación o en la temperatura, la distribución de los erlenmeyers en la sala de cultivos fue aleatoria y se cambió diariamente.
- La agitación de los cultivos para evitar sedimentación de las microalgas fue manual.



## Registro de parámetros

- Se registraron a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas en todas las réplicas de todas los tratamientos y de la serie control.
- **Densidad de células:** conteo en la cámara Neubauer bajo MO.
- **Clorofila “a”:** con espectrofluorómetro.
- Adicionalmente se realizaron observaciones al MO, para registrar posibles alteraciones en la morfología celular (con respecto a la serie control), así como para determinar si ocurrían cambios en los patrones internos de las células o en la coloración del cultivo.

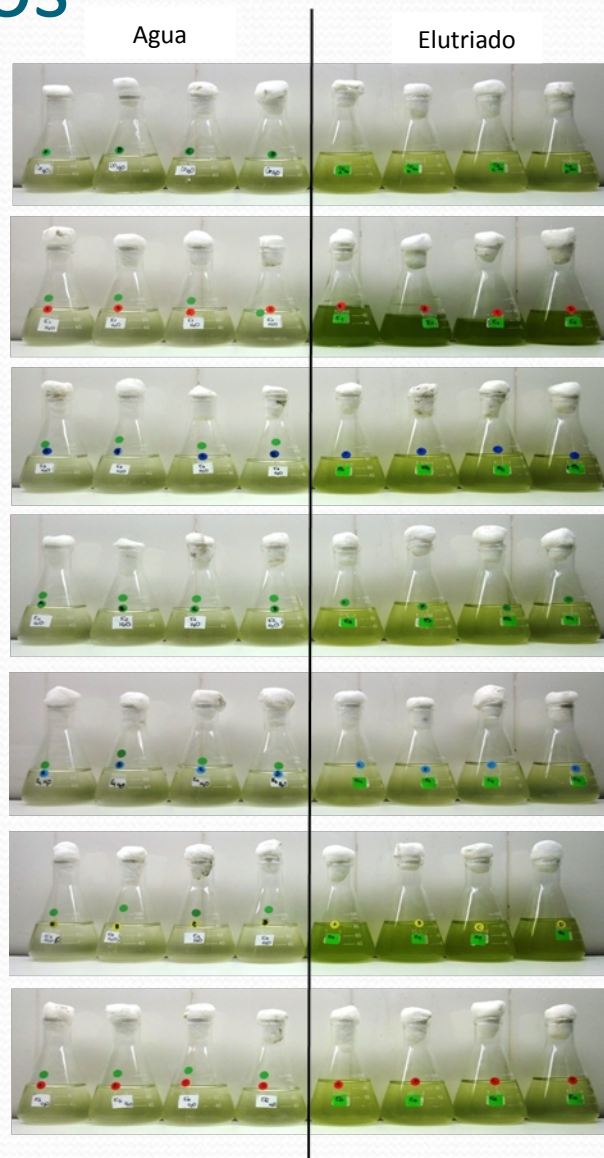
## Análisis estadísticos de los datos

- El análisis de los datos obtenidos a partir de los bioensayos – densidad de organismos y concentración de clorofila “a” - se realizó de acuerdo con las recomendaciones de la USEPA (EPA/821/R/02/012) y según los criterios expuestos en la norma ISO / DIN 5667-16.
- Media  $\pm$  error estándar de la media: estadística descriptiva.
- Homogeneidad de varianza y normalidad: Bartlett y Kolmogorov Smirnov, respectivamente.
- Diferencias densidad de células ( $n^\circ$  cel/ml), tasa de crecimiento y concentración de clorofila “a” ( $\mu\text{g/ml}$ ) en ambas especies evaluadas, *Tetraselmis suecica* y *Nitzschia aff. kuetzingioides*, entre tratamientos (agua y elutriado), entre estaciones muestreadas (E1, E2, E3, E4, E5 y E6) y entre fechas de muestreo (1°, 2°, 3° y 4°): ANOVA doble.

## Análisis estadísticos de los datos

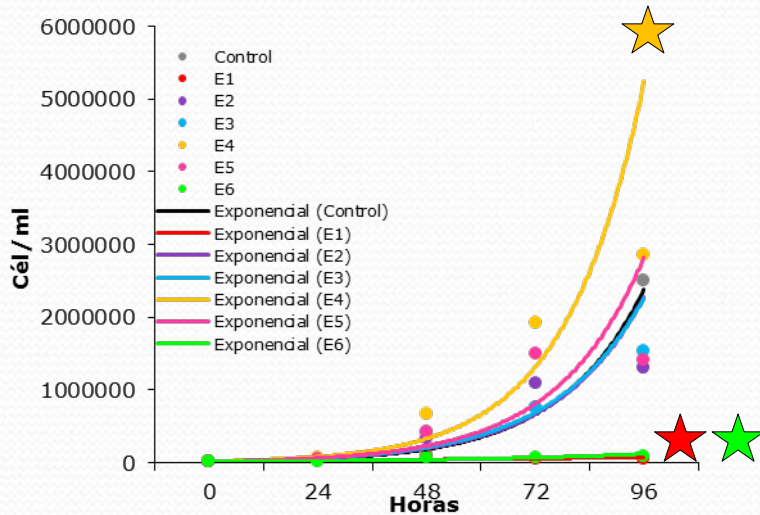
- Resultados de ANOVA, con diferencias significativas: Test de Tukey.
- Diferencias estadísticas significativas en los casos que se detectó interacción entre variables: Análisis de la varianza simple ( $p < 0,05$ ).
- Relación entre la densidad de células y la concentración de clorofila “a” en ambas especies de algas y en los tratamientos en agua y elutriado de los sedimentos: Análisis de regresión lineal simple con transformación  $\ln(x+1)$ .
- Todos los tests estadísticos fueron realizados con los paquetes estadísticos SPSS 15.0 para Windows e InfoStat 2008 (versión estudiantil).

# Resultados

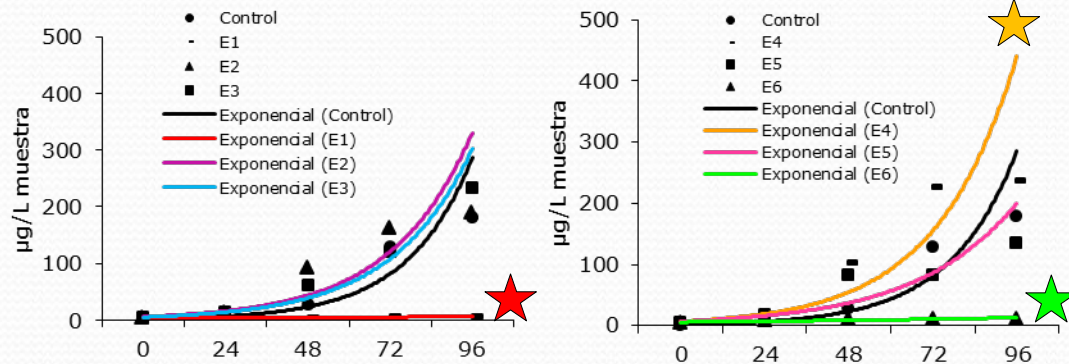


# Bioensayos con *Nitzschia aff. kuetzingioides* en elutriado del sedimento del estuario proveniente del muestreo 1°M-jun'15

## Densidad de células



## Clorofila "a"

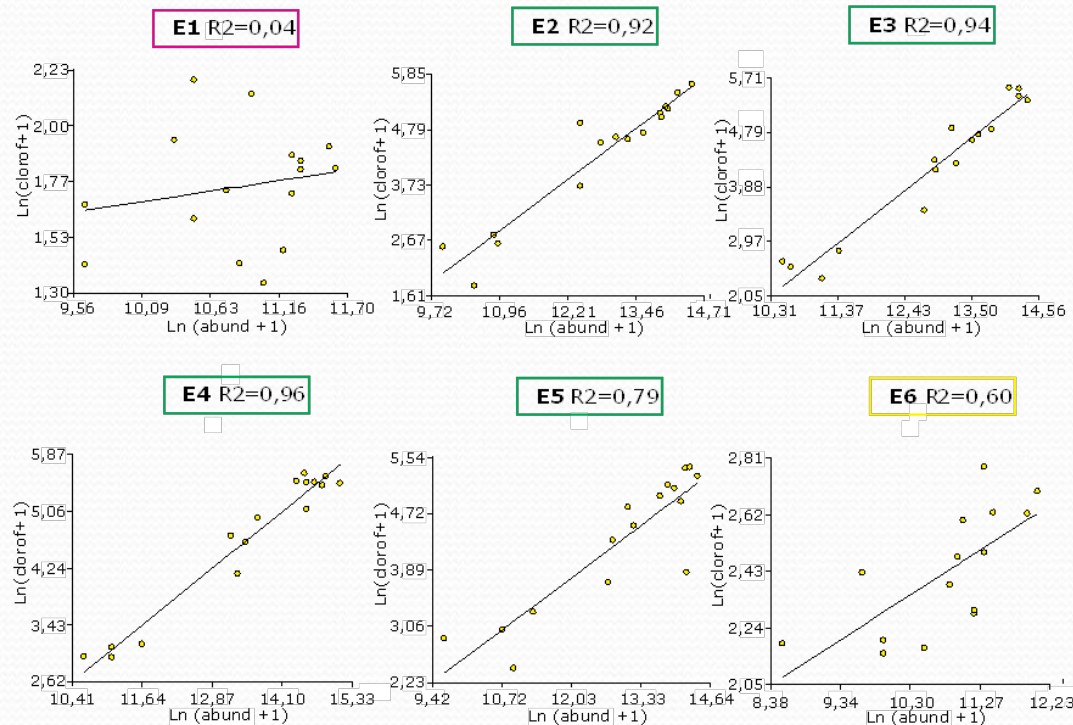


**E4:** mejor respuesta de crecimiento y clorofila "a" que el control.

**E1 y E6:** menor crecimiento y concentración de clorofila "a".

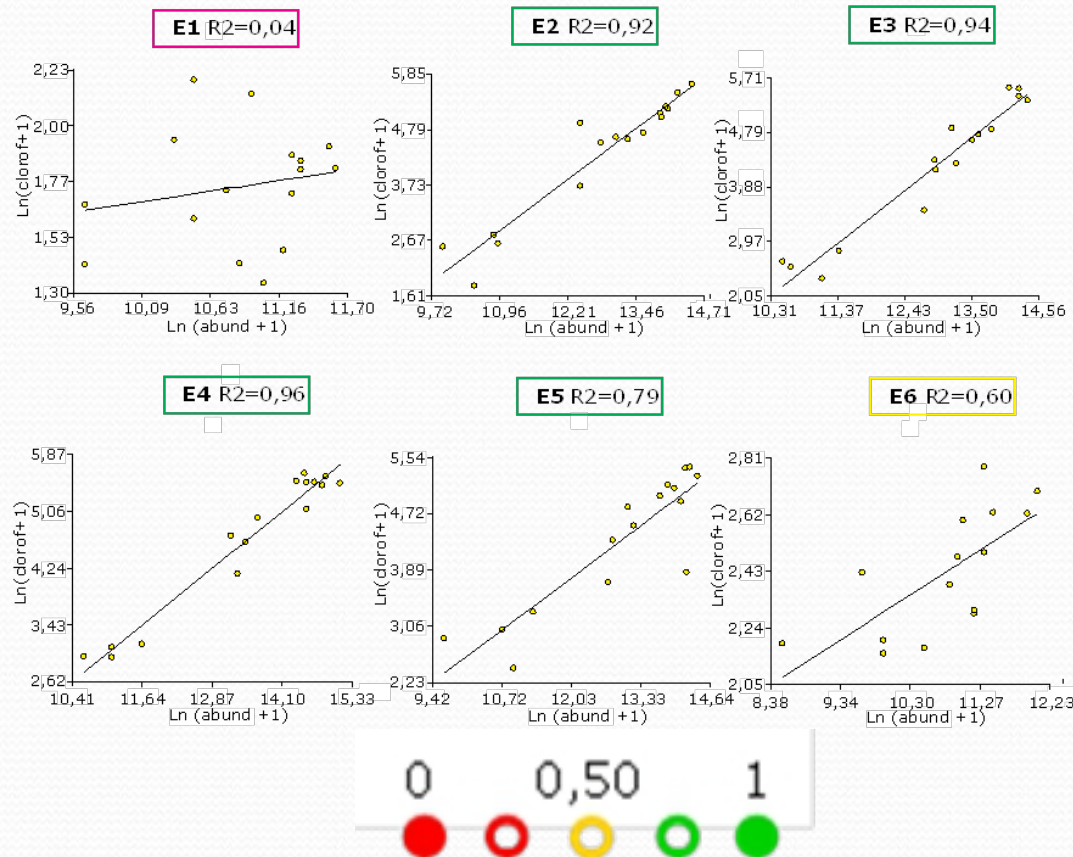
# Evaluación del estado fisiológico de las microalgas evaluadas

Este análisis se basó en la regresión entre las dos variables evaluadas durante los bioensayos: densidad de células – clorofila “a”.



# Evaluación del estado fisiológico de las microalgas evaluadas

La falta de regresión entre ambas variables se podría interpretar como la existencia de una situación problemática en el estado fisiológico o morfo-fisiológico.





## **Alteraciones morfológicas observadas durante el estudio**

La presencia de células anormales de diatomeas en una población o comunidad puede ser indicador de algún estrés ambiental como disminución de la calidad del agua o contaminación química.

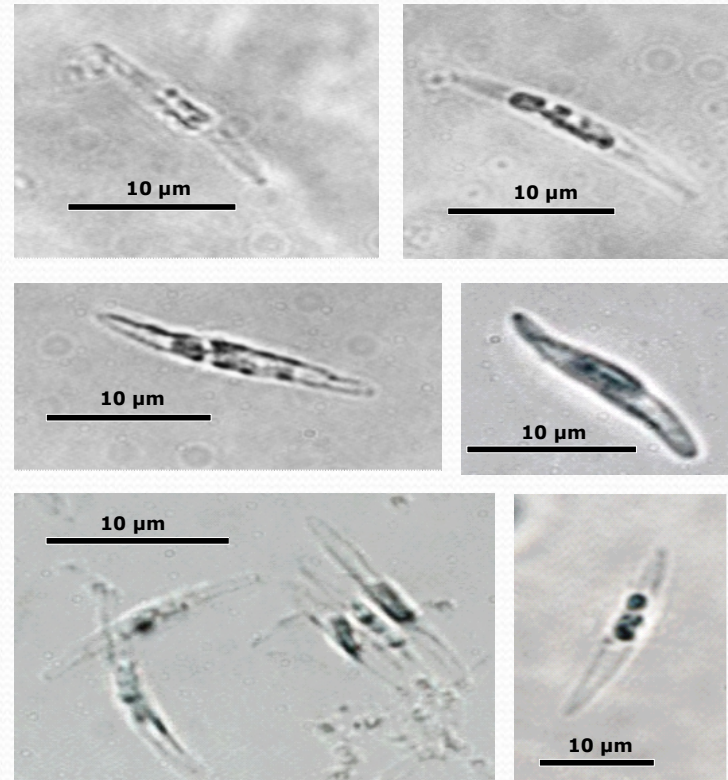
Algunas alteraciones en el contorno de las valvas son transportadas mecánicamente durante la reproducción, dando lugar a toda una población con una morfología diferente a la de la línea parental incidiendo en la calidad y disponibilidad de alimento para zooplancton y larvas de crustáceos y peces.

# Alteraciones morfológicas observadas durante el estudio

normal



anomalías



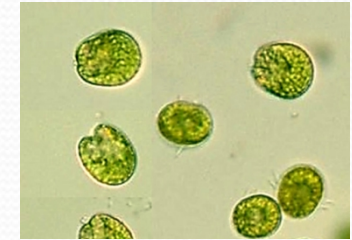
Una definida alteración morfológica en diatomeas podría considerarse como una herramienta válida para proporcionar una primera aproximación sobre la calidad del agua.



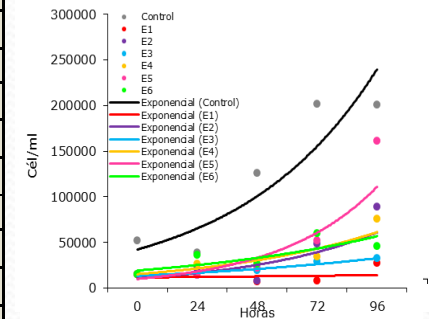
# Análisis de los Resultados

# Síntesis gráfica valorativa del estado ecotoxicológico

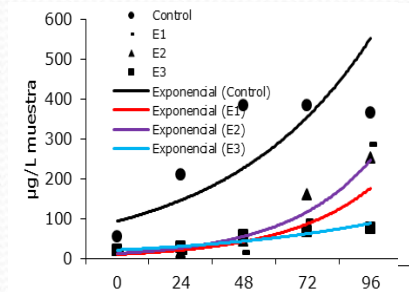
| DC: Dinámica de crecimiento<br>EF: estado fisiológico |                                     |    | 1ºM-jun'15 |       | 2ºM-sep'15 |       | 3ºM-dic'15 |       | 4ºM-mar'16 |       |
|---|-------------------------------------|----|------------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
|   |                                     |    | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. |
| Control   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E1<br>(CLO)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E2<br>(IG)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E3<br>(cPG)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          | ○     | ○          | ○     |            |       |            |       |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E4<br>(M)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E5<br>(3°C)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E6<br>(PC)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |



## Crecimiento

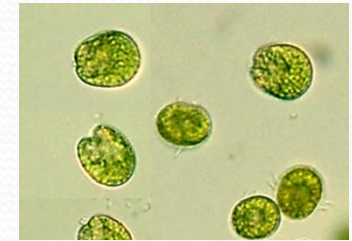


## Clorofila "a"



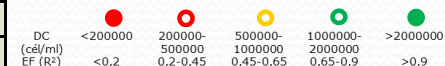
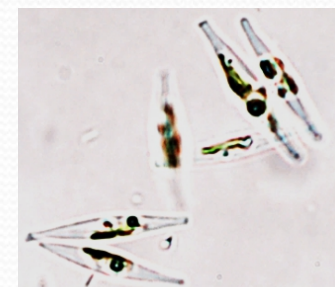
# Síntesis gráfica valorativa del estado ecotoxicológico

| DC: Dinámica de crecimiento<br>EF: estado fisiológico |                                     |    | 1°M-jun'15 |       | 2°M-sep'15 |       | 3°M-dic'15 |       | 4°M-mar'16 |       |
|---|-------------------------------------|----|------------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
|   |                                     |    | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. |
| Control   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     |
|   |                                     | EF | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E1<br>(CLO)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E2<br>(IG)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ●          | ●     | ●          | ○     | ●          | ●     | ●          | ●     |
|   |                                     | EF | ○          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E3<br>(cPG)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ●          | ●     | ○          | ○     | ●          | ●     | ●          | ●     |
|   |                                     | EF | ○          | ●     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E4<br>(M)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ●          | ●     | ●          | ○     | ●          | ●     | ●          | ●     |
|   |                                     | EF | ○          | ●     | ○          | ●     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E5<br>(3°C)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ●          | ●     | ○          | ●     | ○          | ○     | ●          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
| E6<br>(PC)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ●          | ○     | ●          | ○     | ●          | ●     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |



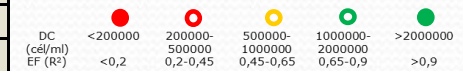
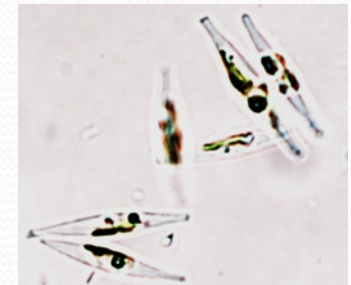
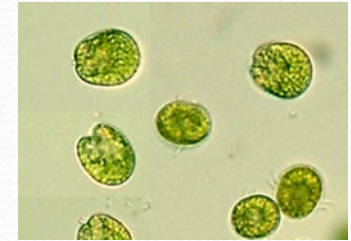
# Síntesis gráfica valorativa del estado ecotoxicológico

| DC: Dinámica de crecimiento<br>EF: estado fisiológico |                                     |    | 1°M-jun'15 |       | 2°M-sep'15 |       | 3°M-dic'15 |       | 4°M-mar'16 |       |
|---|-------------------------------------|----|------------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
|   |                                     |    | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. |
| Control   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ●     | ○          | ●     | ○          | ●     | ○          | ●     |
|   |                                     | EF | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     |
| E1<br>(CLO)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ●     | ○          | ○     | ●          | ●     | ●          | ●     |
|   |                                     | EF | ○          | ●     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ●     |
| E2<br>(IG)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ●     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
| E3<br>(cPG)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ●     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
| E4<br>(M)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ●     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
| E5<br>(3°C)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
| E6<br>(PC)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   |                                     | EF |            |       |            |       |            |       |            |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |



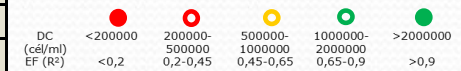
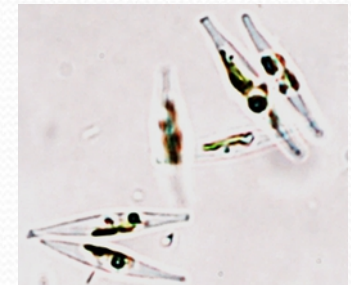
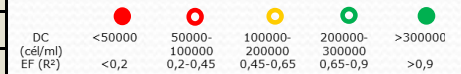
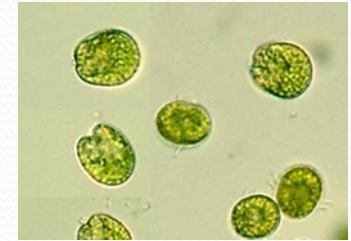
# Síntesis gráfica valorativa del estado ecotoxicológico

| DC: Dinámica de crecimiento<br>EF: estado fisiológico |                                     |    | 1°M-jun'15 |       | 2°M-sep'15 |       | 3°M-dic'15 |       | 4°M-mar'16 |       |
|---|-------------------------------------|----|------------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
|   |                                     |    | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. |
| Control   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
| E1<br>(CLO)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
| E2<br>(IG)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
| E3<br>(cPG)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
| E4<br>(M)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
| E5<br>(3°C)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
| E6<br>(PC)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          |       | ○          |       | ○          |       | ○          |       |
|   |                                     | EF | ●          |       | ●          |       | ●          |       | ●          |       |



# Síntesis gráfica valorativa del estado ecotoxicológico

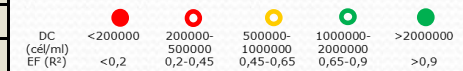
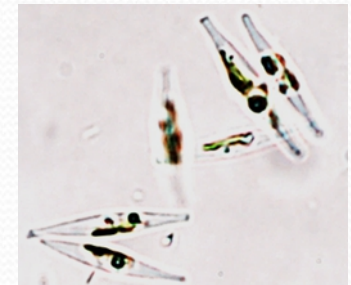
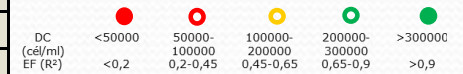
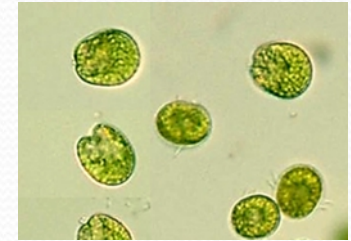
| DC: Dinámica de crecimiento<br>EF: estado fisiológico |                                     |    | 1ºM-jun'15 |       | 2ºM-sep'15 |       | 3ºM-dic'15 |       | 4ºM-mar'16 |       |
|---|-------------------------------------|----|------------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
|   |                                     |    | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. |
| Control   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ●     |            | ●     |            | ●     |            | ●     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            | ●     |            | ●     |            | ●     |            | ●     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
| E1<br>(CLO)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            | ●     |            | ●     |            | ●     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            | ●     |            | ○     |            | ●     |            | ●     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
| E2<br>(IG)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            | ○     |            | ●     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
| E3<br>(cPG)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            | ○     |            | ●     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            | ○     |            | ●     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
| E4<br>(M)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
| E5<br>(3°C)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
| E6<br>(PC)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC |            | ○     |            | ●     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC |            | ●     |            | ●     |            | ○     |            | ○     |
|   |                                     | EF |            | ○     |            | ○     |            | ○     |            | ○     |





# Síntesis gráfica valorativa del estado ecotoxicológico

| DC: Dinámica de crecimiento<br>EF: estado fisiológico |                                     |    | 1ºM-jun'15 |       | 2ºM-sep'15 |       | 3ºM-dic'15 |       | 4ºM-mar'16 |       |
|---|-------------------------------------|----|------------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
|   |                                     |    | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. | Agua       | Elut. |
| Control   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ●     |
| E1<br>(CLO)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          | ●     | ○          | ●     | ○          | ●     | ○          | ●     |
|   |                                     | EF | ●          | ●     | ●          | ●     | ●          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ●     | ○          | ●     | ○          | ●     | ○          | ●     |
|   |                                     | EF | ○          | ●     | ○          | ●     | ○          | ○     | ○          | ○     |
| E2<br>(IG)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ●          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
| E3<br>(cPG)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
| E4<br>(M)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
| E5<br>(3°C)   | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
| E6<br>(PC)  | <i>Tetraselmis suecica</i>          | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   | <i>Nizschia aff. kuetzingioides</i> | DC | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |
|   |                                     | EF | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     | ○          | ○     |



# Conclusiones

- Las especies de microalgas *Tetraselmis suecica* y *Nitzschia* aff. *kuetzingioides* demostraron tener sensibilidad y relevancia ecológica y tuvieron un comportamiento diferencial de las 3 variables: densidad celular, concentración de clorofila “a” y crecimiento de la población.
- Se logró la estandarización de los bioensayos ajustándolos a la normativa vigente alcanzando la reproductividad experimental, confiabilidad e identificación de las principales fuentes de potenciales errores.
- La utilización de organismos nanoplanctónicos de dos diferentes especies otorgó una mayor relevancia ecológica a las valoraciones ya que ambos organismos no presentaron las mismas respuestas y presentaron un patrón de crecimiento diferente.

# Conclusiones

- En **junio, septiembre y diciembre** se observó un desacople entre la concentración de clorofila “a” y la densidad de individuos.

Esta situación representó un buen indicador del **estado fisiológico** de los organismos, ya que el mismo coincidió con situaciones de baja densidad de individuos, lo cual indicaría que los factores que afectan al crecimiento poblacional estarían también influyendo sobre el estado fisiológico de las microalgas.

Este fenómeno fue más frecuentemente observado en las estaciones **E1 (CLO)** y **E6 (PC)**, aunque en el muestreo de septiembre dicho desacople se observó en todos los sitios.

# Conclusiones

- Se registró una fuerte inhibición del crecimiento de las microalgas en los bioensayos en agua y fundamentalmente en elutriado del sedimento en **E1** (CLO) y **E6** (PC) coincidentemente con un aumento de las concentraciones de metales pesados y compuestos aromáticos (PAHs) registrados en el sedimento en estos dos sitios de muestreo.

Sin embargo, por no ser este un estudio de asociación causa-efecto, no se puede inferir sobre la naturaleza de los compuestos responsables de los efectos observados sobre *T. suecica* y *N. aff. kuetzingioides*.

En efecto, por haberse utilizado un medio de cultivo no sintético, que contiene diversidad de compuestos (metales, PAHs y otros no determinados) es imposible individualizar la respuesta de las microalgas a cada uno de ellos, además de la ocurrencia en simultáneo de diferentes compuestos que pueden generar un efecto sinérgico o antagónico entre ellos.

# Conclusiones

- Asimismo, en **septiembre** pudo evidenciarse un efecto inhibitor del crecimiento de las microalgas en todas las estaciones de muestreo tanto en agua como en elutriado del sedimento coincidentemente con el registro más bajo de nutrientes, inclusive en **E1** (Clo) estación caracterizada por su alto contenido de materia orgánica.

Esto ocasionaría una mayor sensibilización de los organismos a la presencia de sustancias contaminantes específicas que estén en bajas concentraciones o la mezcla de ellas.

# Conclusiones

- La respuesta de las microalgas sugiere una elevada movilidad de compuestos potencialmente ecotoxicológicos, tanto en agua como en sedimentos y, consecuentemente, una alta capacidad de recuperación integral del sistema, ya que durante los bioensayos realizados tanto en agua como en elutriado de sedimento provenientes del último muestreo (marzo 2016) en ambas especies se observó un aumento de todas las variables relacionadas con el crecimiento (densidad de organismos, clorofila “a” y tasa de crecimiento).

Esto fue coincidente con una mayor concentración de nutrientes (nitratos, sílice disuelto y fósforo reactivo soluble) registrada en esa fecha y a una disminución importante de las concentraciones de metales pesados.

# Conclusiones

- Las **alteraciones morfológicas** observadas podrían reflejar una situación puntual de estrés ambiental de tipo físico o químico que ameritan una mayor profundización de los estudios para detectar los efectos de los contaminantes individuales y múltiples y sus efectos sinérgicos adicionales, con el fin de conformar una herramienta fiable para la evaluación de calidad de la masa de agua y sedimentos del estuario.

# Conclusiones

- Los sitios de muestreo **E1** (CLO) y **E6** (PC) representan sitios más sensibles que requerirían especial atención en futuros programas de gestión ambiental.

Sin embargo, en los restantes sitios de muestreo también se observaron alteraciones en el crecimiento y estado fisiológico de las microalgas que podrían estar asociados con situaciones de vertidos puntuales de sustancias contaminantes y por lo tanto se recomienda continuar con la evaluación.



# Conclusiones

- Como era de esperar, no se detectó una respuesta identificatoria válida para una caracterización **estacional** de la calidad del agua o del sedimento, ya que tanto los vuelcos de aguas residuales urbanas y la mayor parte de las actividades antrópicas desarrolladas en el estuario no siguen un patrón estacional y sí están sujetas a la operatividad de los sistemas domésticos e industriales, por lo que futuros estudios deberían ajustarse a ese patrón temporal.

# Conclusiones

- Este primer estudio de la ecotoxicidad del agua y sedimento del estuario de Bahía Blanca permitió analizar la respuesta del eslabón inicial de la cadena trófica ante las variaciones de la calidad del agua, aportando los primeros datos sobre niveles de peligrosidad trasladable y asimilable a otros organismos.

Su continuación permitirá identificar sitios que requieran la intervención y/o el manejo en futuros programas de gestión para establecer niveles guía de protección del ambiente estuarial y su biota.

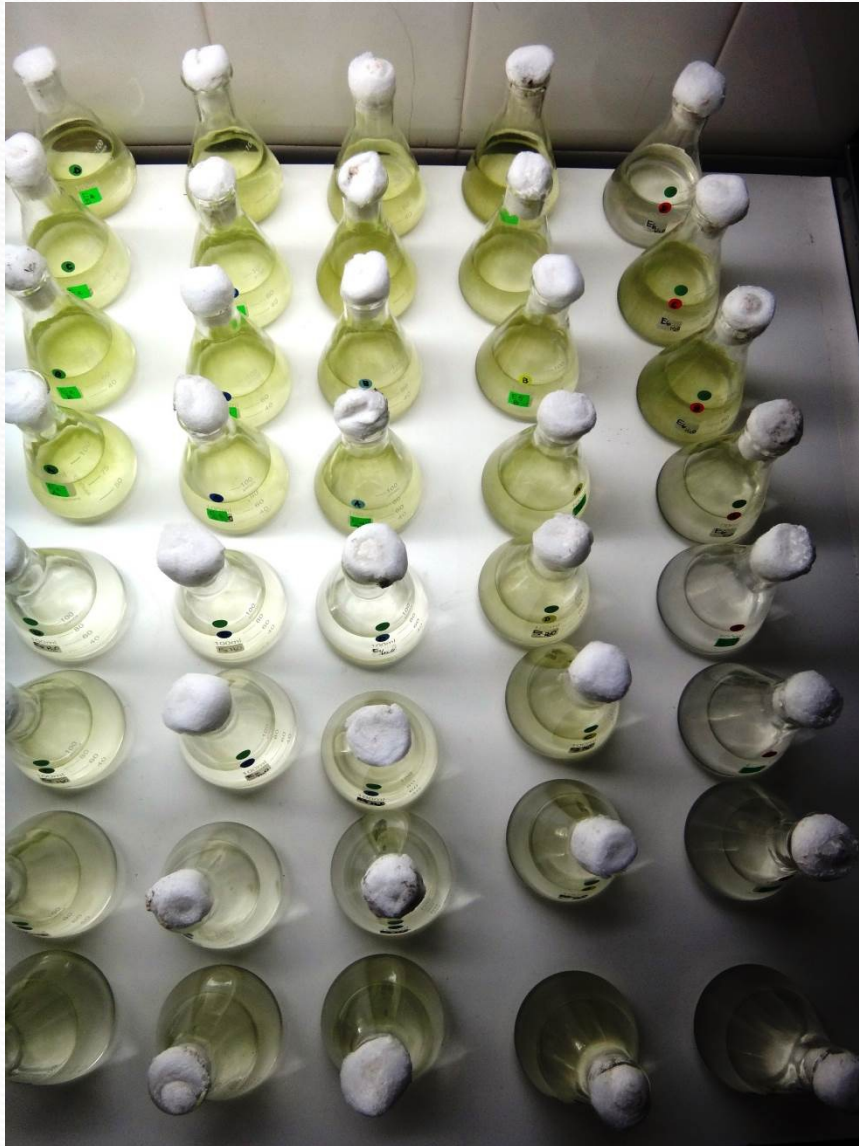
# Propuesta

## **Continuar con las baterías de Bioensayos:**

- Utilizando *Nitzschia* y también seleccionar otra especie autóctona del fitoplancton, dentro del rango 10-30  $\mu\text{m}$  de tamaño celular.
- Aplicando concentraciones y/o combinaciones variables de los elementos detectados.
- Replanteando fechas de muestreos acorde con actividades antrópicas.

## **Analizar alteraciones en la morfología**

- Observaciones con SEM al final de cada bioensayo.
- Análisis *in situ* de la morfología de las diatomeas.



***¡ Muchas gracias !***