

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EVALUACIÓN DE CARACTERES DE LOS CURSOS DE AGUA QUE
ATRAVIESAN ESTABLECIMIENTOS DE FEEDLOT, POR DIFERENTES
TÉCNICAS DE BIOENSAYOS Y PARÁMETROS FÍSICO QUÍMICOS**

Por:

Daniel BARUCH MONZA

**TESIS DE GRADO presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de Doctor en
Ciencias Veterinarias**

**Orientación: Higiene, Inspección, Control y
Tecnología de los Alimentos de Origen Animal**

MODALIDAD: Ensayo Experimental

MONTEVIDEO

URUGUAY

2018

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Cristina Ríos

Segundo miembro (Tutor):

Gonzalo Suárez

Tercer miembro:

Virginia Mosca

Cuarto miembro:

Diana Míguez

Fecha:

Autor:

Bachiller Daniel Baruch Monza

Agradecimientos

A la Facultad de Veterinaria, en especial a la Cátedra de Farmacología que me ha acompañado en estos últimos 3 años de la carrera. Al Dr. **Gonzalo Suárez** Msc. por su constante colaboración tanto en esta tesis como en otros proyectos de investigación; apoyándome siempre en los proyectos a realizar, formándome como futuro profesional y como persona.

A la organización LATITUD por su colaboración, sin el cual esta tesis hubiese sido inviable. En especial a la Dra. **Diana Míguez**, Q.F., PhD. por su constante apoyo a mi formación y por su asesoramiento incondicional al proyecto.

Un gran agradecimiento al Dr. **Julio Espinola** por su apoyo no solo en la realización de esta tesis, sino también con innumerables trabajos, para lo cual siempre estaba a mi disposición.

Un particular agradecimiento al Ingeniero agrónomo **Francisco Albisu** por su apoyo, interés y motivación para que este trabajo fuese posible, permitiéndonos realizar la toma de muestras en su establecimiento.

Por último agradezco a mi familia que me acompañó durante todo este proceso, a mis amigos y compañeros de estudio por el apoyo que me brindaron a lo largo de la carrera.

Tabla de contenido

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS, IMÁGENES Y GRÁFICAS.....	5
RESUMEN.....	6
SUMMARY.....	6
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	7
OBJETIVOS.....	9
METODOLOGÍA.....	10
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN.....	22
CONCLUSIONES.....	23
BIBLIOGRAFÍA.....	24

Lista de tablas, imágenes y gráficas:

<u>Tablas:</u>	Páginas
Tabla I: Valores establecidos según el Decreto 253/79 para los cuerpos de agua que pertenecen a la clase 2 a.	8
Tabla II: Protocolos para la realización de los estudios Físicoquímicos en el L.A.T.U.	15
Tabla III: Resultados obtenidos en el estudio de <i>Latuca sativa</i> del primer muestreo.	16
Tabla IV: Resultados obtenidos en el estudio de <i>Latuca sativa</i> del segundo muestreo.	16
Tabla V: Resultados obtenidos en el primer muestreo por la técnica de bioluminiscencia Microtox®.	18
Tabla VI: Resultados obtenidos en el segundo muestreo por la técnica de bioluminiscencia Microtox®.	18
Tabla VII: Resultados Físicoquímicos obtenidos del primer establecimiento.	19
Tabla VIII: Resultados Físicoquímicos obtenidos del segundo establecimiento.	20
 <u>Imágenes:</u>	
Imagen 1: Área del establecimiento A, indicando ubicación de corrales, curso de agua y puntos de muestreo.	10
Imagen 2: Área del establecimiento B, indicando ubicación de corrales, curso de agua y puntos de muestreo.	11
Imagen 3: Envase de polietileno, estéril, sellado al vacío.	11
Imagen 4: Germinadores <i>Latuca sativa</i> luego de realizar la incubación.	12
Imagen 5: Cultivo con ejemplares de <i>Daphnia magna</i> , enfrentados a diferentes diluciones de la muestra a estudiar.	13
Imagen 6: Equipo Microtox® modelo 500.	14
 <u>Gráficos:</u>	
Gráfico 1: Resultados del estudio con <i>Latuca sativa</i> del primer muestreo, expresado en diagrama de cajas.	17
Gráfico 2: Resultados del estudio con <i>Latuca sativa</i> del segundo muestreo, expresado en diagrama de cajas.	17
Gráfico 3: Niveles de fósforo total de ambos establecimientos.	21
Gráfico 4: Niveles de fósforo soluble en ambos establecimientos.	21
Gráfico 5: Niveles de nitrógeno total en ambos establecimientos.	21
Gráfico 6: Niveles de nitratos en ambos establecimientos.	22

Evaluación de caracteres de los cursos de agua que atraviesan establecimientos de FeedLot, por diferentes técnicas de bioensayos y parámetros físico químicos

Resumen:

Los Feedlots son establecimientos que se dedican al engorde de bovinos a corral mediante el uso de alimentos concentrados. En múltiples ocasiones se ha señalado a estos establecimientos de ser una actividad responsable de la contaminación de los cursos de agua tanto superficial como subterránea. Este trabajo tiene como objetivo caracterizar mediante modelos de bioensayos y análisis fisicoquímicos los cursos de agua que se encuentran en zonas declive a los corrales de engorde. Para ello se realizaron dos muestreos en tres diferentes puntos del curso de agua: aguas arriba del emprendimiento, frente al emprendimiento y aguas abajo al emprendimiento. En los estudios con bioensayos no se encontró niveles de toxicidad para los modelos de *Daphnia magna* ni *Latuca sativa*. Sin embargo en el estudio realizado con *Vibrio fischeri* se observaron niveles leves de toxicidad en ambos cursos de agua. En los estudios fisicoquímicos se constató que ambos cursos de agua se encontraban con niveles de Fósforo Total superiores a lo establecido en el Decreto 253/79 desde antes de ingresar a los establecimientos.

Summary:

Feedlots are companies involved in the fattening of cattle through the use of concentrated foods in a restricted area. On many occasions, these companies have been held responsible for the contamination of both surface and underground water courses. The objective of this work is to characterize, through models of bioassays and physicochemical analysis, the watercourses that are found in declining areas of the feedlot. To do this, two samples were taken at three different points of the watercourse: upstream of the feedlot, in front of the feedlot and downstream to the feedlot. In studies with bioassays, no toxicity levels were found for *Daphnia magna* or *Latuca sativa* models. However, in the study with *Vibrio fischeri*, slight levels of toxicity were observed in both water courses. In the physicochemical studies it was found that both water courses had Total Phosphorus levels higher than that established in Decree 253/79 even before entering the studied areas.

1. Introducción:

Los grandes avances en la producción pecuaria que ha alcanzado Uruguay en los últimos años, tales como la trazabilidad del ganado mediante la identificación electrónica por chipeo, los records de producción y de exportación de ganado en pie, conllevan la responsabilidad de cuidar y preservar el medio ambiente.

Uno de los factores que ha permitido alcanzar estos niveles de producción, son los sistemas de engorde a corral, con alimentación a base de concentrados (Feedlot). Estos sistemas son fundamentales para el proceso de producción y el cumplimiento de las características específicas para ingresar en mercados internacionales mas exigentes y con mayores precios de venta (cuota HILTON y 481).

Sin embargo uno de los inconvenientes de estos sistemas de producción intensiva (Feedlot) es que producen grandes volúmenes de residuos (estiércol, orina, productos veterinarios). (Hernandez, 2011) Estos residuos, mediante infiltración en el terreno, por arrastre, escorrentías o lixiviación (Álvarez y col, 2011), pueden contaminar los suelos y las aguas superficiales y profundas pudiendo producir efectos contraproducentes. (Álvarez y col, 2011; Grünwaldt y col, 2011; Rahman y col 2013). Uno de los eventos de mayor notoriedad en los últimos años la contaminación de la cuenca del río Santa Lucia. (Achkar y col, 2012)

Debido a esto, la Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) a lo largo de los años ha estado monitoreando numerosos cursos de agua mediante estudios Físicoquímicos. En particular en el año 2009 el Banco Interamericano de Desarrollo (BID) financió un relevamiento de los establecimientos de engorde a corral, con el objetivo de conocer el desempeño ambiental que presentaban estos establecimientos. (Apa y col, 2009)

En muchos trabajos se señalan a los desechos pecuarios como principales causantes de procesos de eutrofización de los cursos de agua. En la eutrofización, un cuerpo de agua se vuelve abundante en nutrientes, produciéndose un desequilibrio en las cadenas tróficas del sistema. El fenómeno más frecuente es el hipercrecimiento de cianobacterias. En muchos casos el desequilibrio no es solamente debido a un aumento de nutrientes, sino también debido a la presencia de sustancias que actúan como moduladores metabólicos. Estos moduladores en algún caso incrementan la capacidad de los microorganismos para metabolizar sustancias allí presentes. En otros casos aceleran su tasa de reproducción y también en ciertos casos incrementan su tolerancia a metabolitos tóxicos, reduciéndose la mortalidad e incrementándose la población. (Achkar y col, 2012; Mazzeo, 2010)

Debido a estas variables, es esencial evaluar estas matrices mediante técnicas como los bioensayos. Los bioensayos, empleando diferentes modelos de la escala trófica nos permiten evaluar y predecir el nivel de impacto de estos compuestos sobre el ecosistema.

En la legislación Uruguaya varias normas regulan estos parámetros como ser Ley N° 17.283 / 2000 (en la cual se introduce el concepto de ecotoxicidad), el Decreto 178/2010 (Condiciones sanitarias y ambientales de los establecimientos de engorde

a corral) y en particular el Decreto 253/79 que trata sobre contaminación de cuerpos de agua.

En este trabajo, empleamos como referencia los valores establecidos en el Decreto 253/79, correspondientes a la clase 2 a (Aguas destinadas al riego de hortalizas o plantas frutícolas u otros cultivos destinados al consumo humano en su forma natural, cuando éstas son usadas a través de sistemas de riego que provocan el mojado del producto). Ver Tabla I.

Tabla I: Valores establecidos según el Decreto 253/79 para los cuerpos de agua que pertenecen a la clase 2 a.

PARÁMETROS ESTANDAR	
Olor	No perceptible
Metales flotantes y espumantes no naturales	No perceptible
Color no natural	Ausente
Turbiedad	Max 50 UNT
pH	Entre 6,5 y 9,0
OD	Max 5 mg/L
DBO5	Max 10 mg/L
Aceites y grasas	Virtualmente ausentes
Detergentes	Max 1 mg/L en LAS
Sustancias fenolicas	Max 0,2 mg/L en C6H5OH
Amoniaco libre	Max 0,02 mg/L en N
Nitratos	Max 10 mg/L en N
Fosforo total	Max 0,025 mg/L en P
Sólidos suspendidos totales	Max 700 mg/L
Relación de absorción de sodio (RAS)	Max 10
Coliformes fecales	No se deberá exceder el límite de 2000 Coliforme fecales (CF)/100 mL en ninguna de al menos 5 muestras, debiendo la media geométrica de las mismas estar por debajo de 1000 CF/100 mL
Cianuros	Máx 0,005 mg/L
Arsénico	Máx 0,05 mg/L
Boro	Máx 0,5 mg/L
Cadmio	Máx 0,001 mg/L
Cobre	Máx 0,2 mg/L
Cromo total	Máx 0,005 mg/L
Mercurio	Máx 0,0002 mg/L
Niquel	Máx 0,002 mg/L
Plomo	Máx 0,03 mg/L
Zinc	Máx 0,03 mg/L

Máx = Máximo permitido

La literatura reporta diferentes estudios acerca del impacto que presentan estos corrales de engorde en el medio ambiente (Rahman y col 2013; Achkar y col, 2012; Apa, 2009).

Existen antecedentes de publicaciones en Uruguay en la utilización de bioensayos para evaluar ecotoxicidad de efluentes industriales (Scarone y col, 2002), pero no se encontró bibliografía en las que se evaluara por estos medios las condiciones en las que se encuentran los cursos de agua ubicados en las cercanías de corrales de engorde.

La presente tesis evalúa distintos parámetros fisicoquímicos y el efecto sobre tres modelos biológicos, correspondientes a distintos niveles Tróficos: *Lactuca sativa* var. *Buttercrunch*, *Daphnia magna* y *Vibrio fischeri* (Microtox®).

La técnica de ecotoxicidad sobre *Vibrio fischeri* en sistema Microtox® se emplea actualmente en los laboratorios de contralor de Obras Sanitarias del Estado (OSE), en el departamento de Higiene Ambiental de la Intendencia Municipal de Montevideo (IMM) y en la Dirección Nacional de Medio Ambiente (D.I.N.A.M.A.) (protocolo 6159UY, 2017).

El ensayo sobre el *Vibrio fischeri* en sistema Microtox® se utiliza internacionalmente en toxicología acuática; control legal de descargas agrícolas, industriales y municipales; análisis de suelos, sedimentos y sustancias puras líquidas o sólidos solubilizables (APHA-AEEA-WPCF. 1992; Kaiser, 1991; MVOTMA, 2017).

2.1 Objetivo General

- Caracterizar mediante análisis fisicoquímicos y biológicos dos cursos de agua en establecimientos de engorde a corral de bovinos bajo un sistema de encierre Feedlot.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar mediante el estudio con bioensayos (*Lactuca sativa* var. *Buttercrunch*, *Daphnia magna* y *Vibrio fischeri*) la ecotoxicología de los cursos de agua, aguas arriba del emprendimiento, frente al emprendimiento y aguas abajo al emprendimiento.
- Evaluar el efecto de un Feedlot sobre los parámetros fisicoquímicos de los cursos de agua, en tres lugares: aguas arriba del emprendimiento, frente al emprendimiento y aguas abajo al emprendimiento.

3. Materiales y métodos:

3.1 Selección de los establecimientos:

En esta investigación se contó con el apoyo de la Asociación Uruguaya de Productores de Carne Intensiva Natural (AUPCIN), la cual nos brindó el acceso a establecimientos que cumplieran con determinadas características predefinidas para realizar el estudio:

- Permanencia de animales: los bovinos deberían permanecer dentro del corral a lo largo de todo el estudio.
- Presencia de un curso de agua: cercanía de un curso de agua continúa en declive a los corrales a una distancia no menor a 500 metros.
- Accesibilidad: Autorización para ingreso y toma de muestras por parte del establecimiento, sin un compromiso con la difusión de los resultados finales de la producción.
- Existencia de estudios de impacto ambiental previo efectuados por DINAMA, indicando puntos válidos para el muestreo.

De esta forma se establecieron dos establecimientos (A y B) en el departamento de Flores (ver imagen 1 y 2) que contaban con las características necesarias para llevar a cabo esta investigación.

Imagen 1: Se observa el establecimiento A, los tres puntos de muestreo y los corrales donde se encontraban los bovinos.

Establecimiento A, Contaba con 3 corrales, en los cuales en 2 de ellos se encontraban aproximadamente una dotación de 900 bovinos en total.

En esta imagen se encuentran señalizados los corrales con Rojo, mientras que el curso de agua en azul con los indicadores que señalan los puntos de muestreo (Inicio 1; Medio 2; Fin 3).

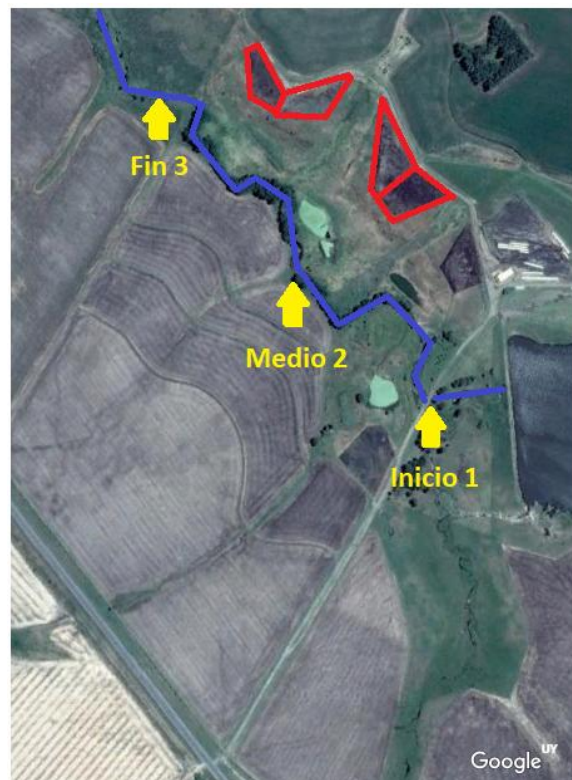


Imagen 2: Se puede observar el establecimiento B, los tres puntos de muestreo y los corrales donde se encontraban los bovinos.

Establecimiento B, contaba con 8 corrales, de los cuales 4 se encontraban con una dotación de aproximadamente 1500 bovinos en total.

En esta imagen se encuentran señalizados los corrales con rojo, mientras que el curso de agua en azul con los indicadores que señalan los puntos de muestreo (Inicio I; Medio II; Fin III)



3.2 Plan de muestreo:

Los bovinos se encontraban en los corrales 30 días previos al comienzo del muestreo. Los dos muestreos de los cursos de agua se realizaron con una diferencia de 30 días (D1;D30). Para el mismo se utilizaron tres puntos de control, los cuales habían sido establecidos por Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) en estudios previos.

Estos puntos fueron: aguas arriba del emprendimiento, aguas abajo al emprendimiento (ambos a aproximadamente a 200 metros de los corrales) y frente al emprendimiento (los cuales se pueden apreciar en las imágenes 1 y 2).

La obtención de las muestras se realizó por duplicado, con recipientes de polipropileno (DELTALAB #409726 www.deltalab.es), obteniendo las muestras por método de inmersión directa de los recipientes, sin cámara de aire (imagen 3).

Imagen 3: Envase de polietileno, estéril, sellado al vacío, con el cual se realizaron la toma de muestras.



Una vez obtenidas las muestras, las mismas fueron transportadas en conservadoras de poliuretano con refrigerante en un lapso menor de 6 horas al Laboratorio S&B Diagnósticos (Montevideo, Uruguay) y al Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU, Montevideo, Uruguay). Para ser almacenadas a 4° C, hasta su análisis. El procedimiento se ajusto a la metodología descrita en la norma ISO 5667-16/1998.

En todos los casos las muestras se procesaron con un lapso no mayor a 12 horas de la toma de muestra en el establecimiento.

3.3 Análisis de laboratorio:

3.3.1 Bioensayos:

3.3.1.a Test estático agudo (5 días), Semilla de lechuga (*Lactuca sativa* var. *Buttercrunch*). El diseño experimental aplicado para este trabajo, consistió en la comparación del crecimiento radicular de las semillas de lechuga, expuesta a un tratamiento al 100% de la muestra y su comparación a un control negativo.

Esta técnica consiste en preparar una serie de germinadores con 10 semillas de *Lactuca sativa* cada uno. Los germinadores se incuban durante 5 días (bajo condiciones de $20 \pm 1^\circ\text{C}$ en ausencia de luz para evitar el efecto fototrópico negativo que presentan las semillas) y posteriormente se determina el largo de las raíces.

La significación de las diferencias de crecimiento encontradas, se realizo mediante la aplicación de un análisis de varianza anova y la realización de un post test (Bowers y col, 1997; Cheung y col, 1989; Dutka, 1989; Ellis, 1985; OECD, 1984; US EPA, 1989; Wang, 1987; APHA, 1998).

Imagen 4: Germinadores luego de realizar la incubación, en los cuales se puede apreciar el crecimiento de las plantas en los líquidos a evaluar.



3.3.1.b Test estático agudo (48hs), *Daphnia magna*. Esta técnica consiste en preparar una serie de recipientes con distintas diluciones de la matriz a estudiar (100, 75, 50, 25, 10 %) y luego se siembran 10 ejemplares de *Daphnia magna* en cada dilución. Estos se incuban durante 48h (bajo condiciones de $20 \pm 1^\circ\text{C}$ y un periodo lumínico de 16 horas de luz, 8 de oscuridad) y posteriormente se determina la mortalidad de los ejemplares (Dutka, 1989; Edley, 1988; Elendt, 1990; Girling, 1989; Goulden, 1982; Gutiérrez, 1989; Klüttgen, 1994; Lewis, 1981; US EPA, 1991; Castillo, 2004).

Imagen 5: Cultivo con ejemplares de *Daphnia magna*, enfrentados a diferentes diluciones de la muestra a estudiar.



3.3.1.c Test de Toxicidad aguda Microtox®, Emplea como organismo a testear una cepa liofilizada de la bacteria marina luminiscente *Vibrio fischeri*, la cual se encuentra registrada en el Agriculture Research Service Culture Collection (NRRL) como B-11177. Para el ensayo se emplea una densidad de bacterias 10^6 cel/mL.

Bajo condiciones adecuadas el microorganismo emplea el 10% de en una vía metabólica que produce luz. Este hecho esta intrínsecamente vinculado a la respiración del mismo, cualquier alteración del ritmo respiratorio, debido a un cambio de metabolismo o a daños en la estructura celular, causara decrecimiento en la luminiscencia.

Para el análisis de las muestras el protocolo utilizado fue el “81,9% screening test”. El diseño experimental de dicho protocolo se basa en la comparación de la emisión de luz de una alícuota de *Vibrio fischeri* en un medio libre de toxicidad (control), contra una alícuota de dicho *Vibrio* en la muestra a analizar.

Las diferencias de emisión de luz entre el control y las muestras, se consideran significativos cuando los valores obtenidos son iguales o superiores a 17 Unidades Relativas de Luz (URL). (según Environment Canada).

Valores positivos superiores a 17 URL, significan una reducción de la emisión de luz respecto al control, por algún efecto toxico sobre la vía metabólica que interviene en la producción de luz.

Valores negativos en la diferencia de emisión entre el control y la muestras indican un efecto de sobre excitación del metabolismo bacteriano, con la consiguiente sobreproducción de luz. Dicho fenómeno puede considerarse toxico cuando la diferencia es superior a 17 URL.

Para medir la luminosidad se utiliza el fotómetro Microtox® modelo 500, el cual mide la luz remanente en una longitud de onda de 490 nm (MVOTMA, 2017; Environment Canada, 1992; Environment Canada,1999).



Imagen 6: Equipo Microtox® modelo 500.

Para la realización de estos estudios se tuvieron en cuenta las normas de bioseguridad y las normas de control de calidad establecidas para la realización de trabajos en el Laboratorio S&B.

3.3.2 Análisis Físicoquímicos:

Los análisis físicoquímicos fueron realizados en el Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU).

Los estudios realizados fueron: Oxidabilidad, Amonio, Conductividad, DBO5, DQO, Fosforo soluble, Sólidos fijos, Nitratos, Nitritos, Ph, Sólidos suspendidos totales, Sólidos disueltos volátiles y fijos, Sólidos totales disueltos, Fosforo total, Sólidos totales, Sólidos suspendidos fijos Sólidos suspendidos volátiles, Sólidos y Nitrógeno total.

En todos los casos los estudios se realizaron según los protocolos de rutina validados por LATU (ver tabla II).

Tabla II: Protocolos para la realización de los estudios Fisicoquímicos en el L.A.T.U.

Parámetros	Referencia bibliográfica
Sólidos disueltos volátiles	APHA 2540E
Sólidos disueltos fijos	
Sólidos suspendidos fijos	
Sólidos suspendidos volátiles	
Sólidos fijos (mg/l)	APHA 2540E
Sólidos Volátiles	
DBO5 (como O2)	ISO 5815-2-2003
DQO (como O2)	ISO 15705
pH	PEC.PQAR.101 basado en APHA 4500 H
Conductividad	PEC.PQAR.112 basado en Norma ISO 7888-1985-05-15
Fósforo soluble (como P)	PEC.PQAR.113 basado en ISO 10304-1/2007
Nitratos (como N)	
Oxidabilidad (como O2)	PEC.PQAR.114 basado en ISO 8467
Amonio (como N)	PEC.PQAR.612 basado en APHA 4500 NH3-D
Oxidabilidad (como O2)	PEC.PQAR.114 basado en ISO 8467
Amonio (como N)	PEC.PQAR.612 basado en APHA 4500 NH3-D
Sólidos Totales	PEC.PQAR003 basado en APHA 2540 B, 22 ^a ed, 2012
Sólidos totales disueltos	PEC.PQAR004 basado en APHA 2540C-1997
Sólidos Suspendidos Totales	PEC.PQAR006 basado en APHA 2540 D, 22 ^a ed, 2012
Nitrógeno Total (como N)	PEC.PQAR606 basado en ISO 11905-2
Fósforo Total (como P)	QuikChem method 31-115-01-03-D

3.4 Análisis estadístico:

En particular el sistema Microtox®, procesa los datos obtenidos mediante el Software MicrotoxOmni.

Los datos obtenidos de los modelos de *Daphnia magna* se analizaron por modelos no paramétricos o mediante un análisis Probit o de Sperman & Kerber, mientras que en el modelo de *Latuca sativa* se presentan como la media y el desvío estándar, siendo comparados los resultados con el grupo control mediante un análisis de varianza y un post test. En todos los casos el nivel de significancia se estableció para un $P < 0.05$.

4. Resultados:

4.1 Ensayos biológicos:

4.1.a *Latuca sativa*:

Los resultados obtenidos se encuentran representados en la tabla III y IV.

En el gráfico 1 y 2 se puede apreciar los datos agrupados y la dispersión de los valores obtenidos mediante un diagrama de cajas. Donde no se presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto al control, ni entre los diferentes puntos de muestreo en cada uno de los establecimientos independientemente ($P>0.05$).

Tabla III: Resultados obtenidos en el estudio de *Latuca sativa* del primer muestreo (D1) en los cursos de agua de los establecimiento A y B.

Primer muestreo			
Muestra	Largo de raíz <i>Latuca sativa</i> (Cm) promedio	Desviación estándar	N
Establecimiento A	Control	1,34	0,25
	Aguas arriba	2,27	0,4
	Frente	2,54	0,57
	Aguas abajo	2,62	0,36
Establecimiento B	Aguas arriba	2,12	0,38
	Frente	1,86	0,48
	Aguas abajo	1,9	0,7

Tabla IV: Resultados obtenidos en el estudio de *Latuca sativa* del segundo muestreo (D30) en los cursos de agua de los establecimiento A y B.

Segundo muestreo			
Muestra	Largo de raíz <i>Latuca sativa</i> (Cm) promedio	Desviación estándar	N
Establecimiento A	Control	2,43	0,27
	Aguas arriba	1,84	0,67
	Frente	1,45	0,34
	Aguas abajo	1,86	0,42
Establecimiento B	Aguas arriba	1,85	0,37
	Frente	2,67	0,42
	Aguas abajo	1,84	0,4

Gráfico1: Resultados del estudio de *Latuca sativa* para el primer muestreo (D1), donde se evalúa mediante diagrama de caja la dispersión de los resultados y las medias obtenidas para cada punto de control.

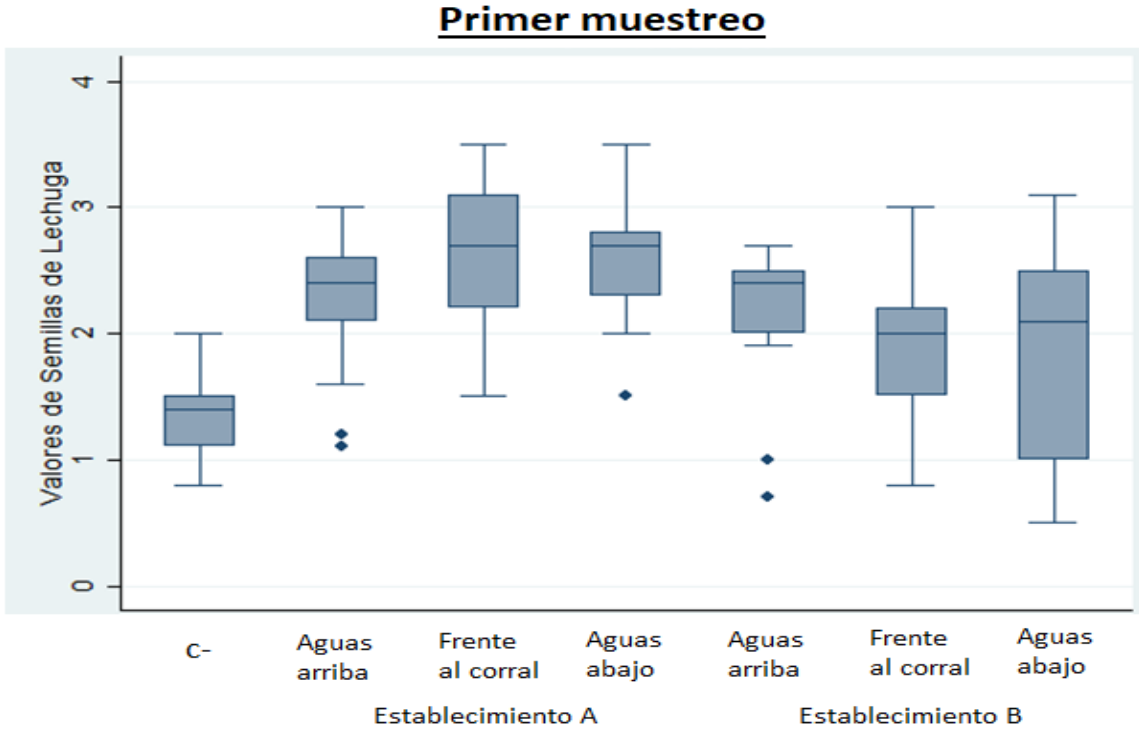
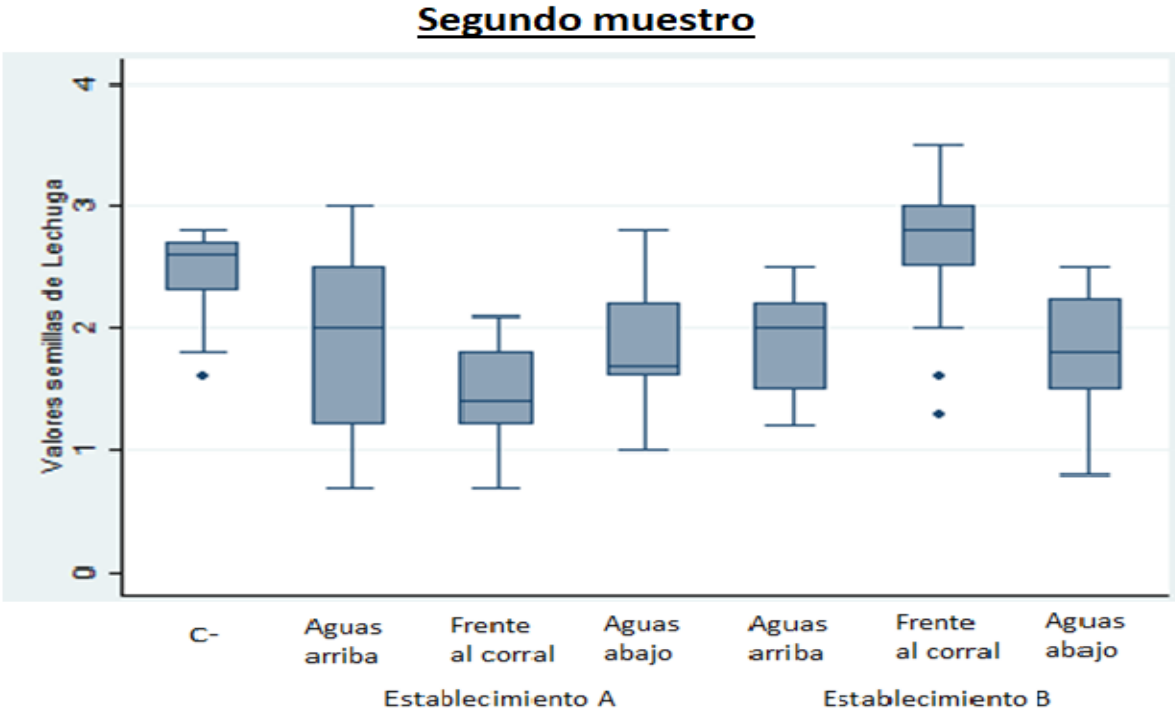


Gráfico2: Resultados del estudio de *Latuca sativa* para el segundo muestreo (D30), donde se evalúa mediante diagrama de caja la dispersión de los resultados y las medias obtenidas para cada punto de control.



4.1.b Daphnia magna:

En cuanto al ensayo agudo (48 horas) de *Daphnia magna*, en cuyo punto de evaluación es la mortalidad de los ejemplares. No se observó ningún efecto en la mortalidad en ninguna de las concentraciones estudiadas (10, 25, 50, 75 o 100% de la muestra), para ninguno de los puntos de muestreo de ambos establecimientos.

4.1.c Microtox®:

En el segundo muestreo, la muestra obtenida frente al corral del establecimiento B, generó valores significativos de efecto tóxico. La presencia en esa única muestra de una elevada turbidez podría explicar estos valores por un fenómeno de interferencia y por tanto no podemos asegurar que el efecto producido sea por presencia de tóxicos.

No se constataron diferencias significativas en el estudio realizado (ver tabla V y VI).

Tabla V: Resultado Microtox® primer muestreo (Muestreo D1).

Tabla VI: Resultados Microtox® segundo muestreo (Muestreo D30).

		Primer muestreo	
		5 minutos ΔURL	15 minutos ΔURL
Establecimiento A	Aguas arriba	-13,98	-14,72
	Frente al corral	-9,86	-11,22
	Aguas abajo	-11,24	-11,87
Establecimiento B	Aguas arriba	-10,62	-14,54
	Frente al corral	-24,15*	-25,27*
	Aguas abajo	-8,49	-14,39

		Segundo muestreo	
		5 minutos ΔURL	15 minutos ΔURL
Establecimiento A	Aguas arriba	-5,6	-20,99*
	Frente al corral	-3,83	-20,79*
	Aguas abajo	-8,83	-23,25*
Establecimiento B	Aguas arriba	-11,92	-28,66*
	Frente al corral	36,69 ■	28,64 ■
	Aguas abajo	6,32	-7,68

* Valores significativos.

■ Valores descartados por turbidez.

4.2 Estudios fisicoquímicos:

Del total de los análisis fisicoquímicos realizados a los cursos de agua (19), 5 están incluidos dentro de las exigencias del Decreto 253/79 para la categoría 2 a.

En las tablas VII y VIII se presentan los resultados obtenidos y los rangos de aceptación en aquellos parámetros que corresponden al Decreto 253/79. En los parámetros que no se encuentran en el decreto se aclara NCD (no corresponde al decreto).

Tabla VII: Resultados Físicoquímicos obtenidos del primer establecimiento.
(Muestreo D1; D30)

Establecimiento A							
Parámetros	Primer muestreo			Segundo muestro			Rango de aceptación
	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	
Oxidabilidad (mg/L)	10,76	10,06	10,8	11,4	4,71	3,46	NCD
Amonio (mg/L)	<0,02	ND	<0,02	0,15	0,16	0,1	NCD
Conductividad (µS/cm)	490	512	502	639	947	853	NCD
DBO5 (mg/L)	0,9	<0,5	<0,5	1,8	2,4	1,6	Max 10 mg/L
DQO (mg/L)	20	24	19	35	<14	<14	NCD
Fosforo soluble (mg/L)	0,57	0,57	0,56	0,23	0,11	0,2	NCD
Sólidos fijos (mg/L)	271	242	219	397	577	510	NCD
Nitratos (mg/L)	1,41	1,51	1,55	<0,034	3,64	3,96	Max 10 mg/L en N
Nitritos (mg/L)	0,068	0,067	0,065	ND	ND	ND	NCD
pH	8,33	8,22	7,64	7,86	7,86	8,3	Entre 6,5 y 9,0
Sólidos suspendidos totales (mg/L)	4,4	6,8	10	7	11	6	NCD
Sólidos disueltos fijos (mg/L)	271	241	217	393	570	507	NCD
Sólidos totales disueltos (mg/L)	368	386	334	523	701	637	NCD
Fosforo total (µg/L)	616*	645*	609*	367*	283*	442*	Max 250 µg/L
Sólidos totales (mg/L)	372	393	344	530	712*	643	Max 700 mg/L
Sólidos suspendidos fijos (mg/L)	ND	1,2	2,4	4,2	7	3,8	NCD
Sólidos suspendidos volátiles (mg/L)	4,4	5,6	7,6	<3	4	<3	NCD
Nitrógeno total (mg/L)	2,24	2,28	2,35	0,87	3,68	3,85	NCD

* Valores por encima de la normativa

Tabla VIII: Resultados Físicoquímicos obtenidos del segundo establecimiento.
(Muestreo D1; D30)

Establecimiento B							
Parámetros	Primer muestreo			Segundo muestreo			Rango de aceptación
	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	Aguas arriba	Frente al corral	Aguas abajo	
Oxidabilidad (mg/L)	10,89	8,4	8,79	2,6	6,29	5,72	NCD
Amonio (mg/L)	0,06	0,05	0,02	0,07	1	0,11	NCD
Conductividad (µS/cm)	498	468	484	565	616	666	NCD
DBO5 (mg/L)	1	<0,5	1,6	1,5	6,9	4,6	Max 10 mg/L
DQO (mg/L)	<14	<14	20	<14	30	27	NCD
Fosforo soluble (mg/L)	0,28	1,02	1,56	0,028	4	4,05	NCD
Sólidos fijos (mg/L)	287	266	206	314	377	383	NCD
Nitratos (mg/L)	2,57	2,82	3,04	1,37	0,15	0,18	Max 10 mg/L en N
Nitritos (mg/L)	0,081	0,116	0,154	ND	ND	ND	NCD
pH	7,78	7,6	7,72	7,98	8,14	8,26	Entre 6,5 y 9,0
Sólidos suspendidos totales (mg/L)	12	9,7	ND	3	4,5	5,7	NCD
Sólidos disueltos fijos (mg/L)	281	264	206	313	376	380	NCD
Sólidos totales disueltos (mg/L)	366	383	347	398	450	481	NCD
Fosforo total (µg/L)	343*	1080*	1700*	131	4,12	495*	Max 250 µg/L
Sólidos totales (mg/L)	378	393	347	401	454	486	Max 700 mg/L
Sólidos suspendidos fijos (mg/L)	6	2,1	ND	<3	ND	3	NCD
Sólidos suspendidos volátiles (mg/L)	6	7,6	ND	<3	4,2	<3	NCD
Nitrógeno total (mg/L)	3,07	3,75	4,13	1,41	1,68	1,17	NCD

* Valores por encima de la normativa

Los valores obtenidos de las tablas VII y VIII, se presentan en los siguientes gráficos, para visualizar parámetros puntuales que presentaron modificaciones en sus valores a lo largo del muestreo:

Gráfico 3: Niveles de fósforo total de ambos establecimientos (Muestreo D1; D30).

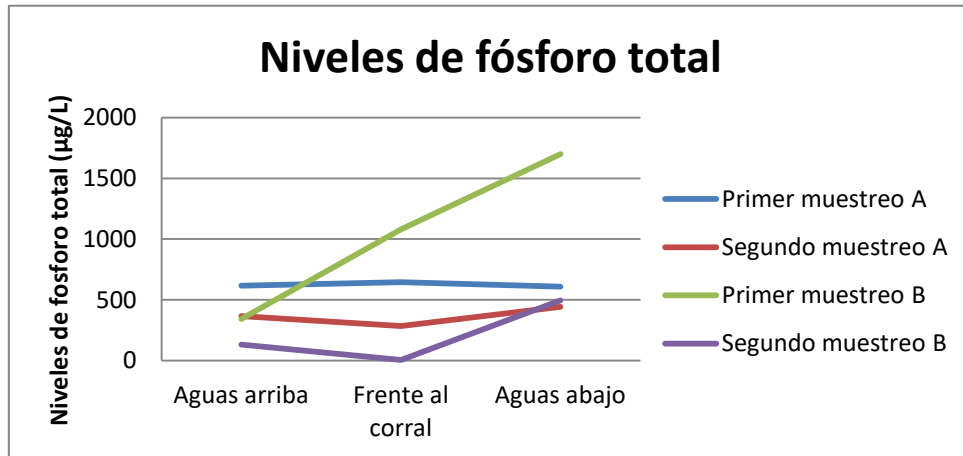


Gráfico 4: Niveles de fósforo soluble en ambos establecimientos. (Muestreo D1; D30)

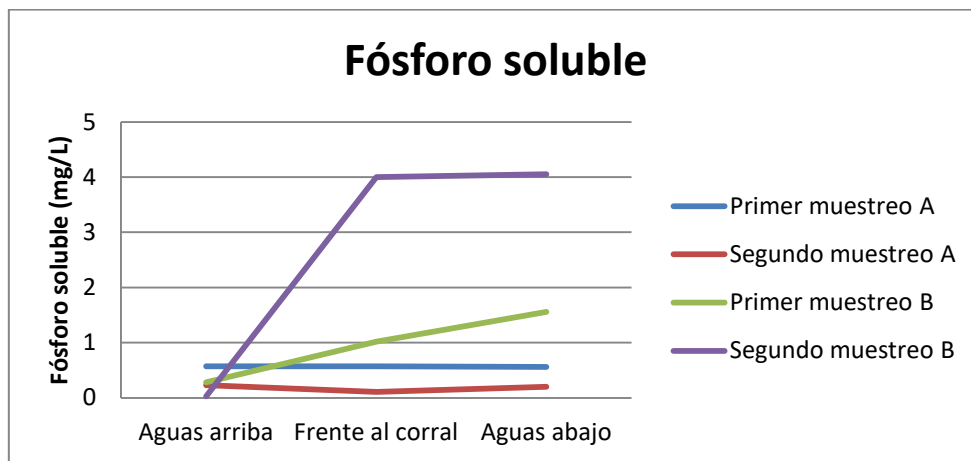


Gráfico 5: Niveles de nitrógeno total en ambos establecimientos (Muestreo D1; D30).

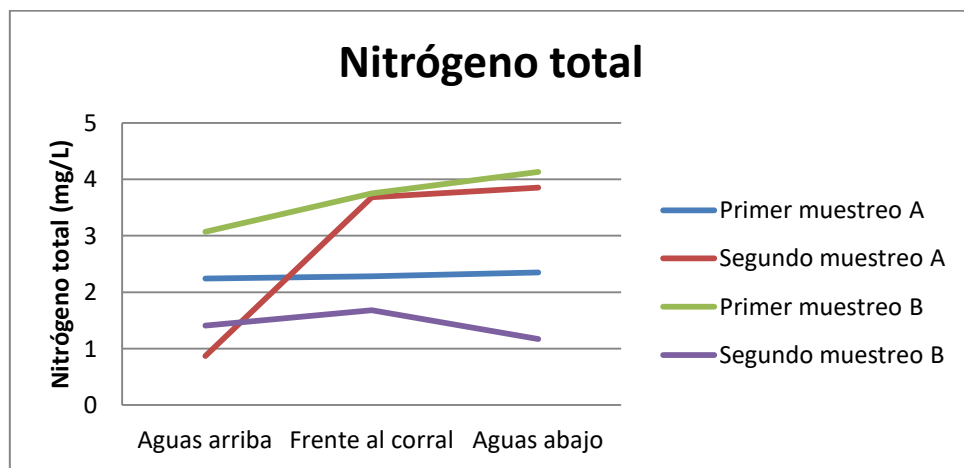
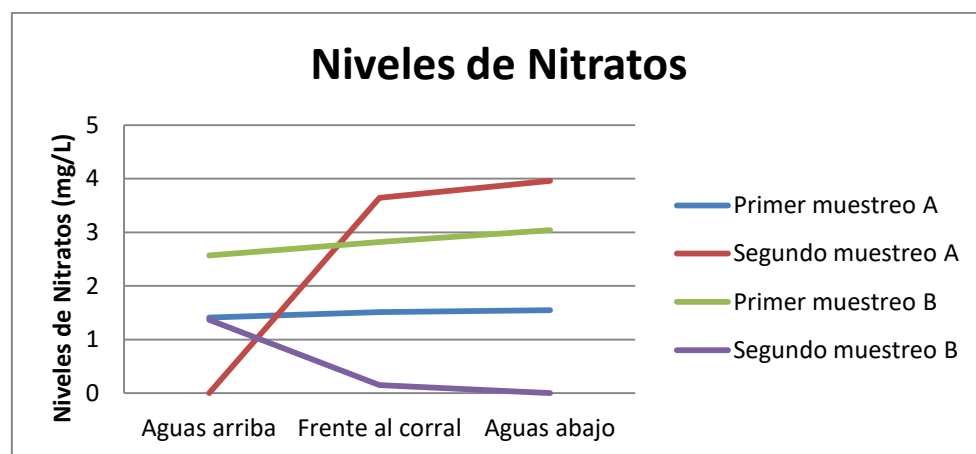


Gráfico 6: Niveles de nitratos en ambos establecimientos (Muestreo D1; D30).



5. Discusión:

Los bioensayos, a diferencia de los estudios fisicoquímicos no evalúan los componentes de la matriz, ni sus variables físicas sino que miden directamente la acción de la matriz sobre modelos biológicos. En este estudio, al emplear tres modelos correspondientes a tres niveles tróficos, análogamente a lo que se plantea en el decreto 182/13, predecir el potencial efecto de esta matriz sobre el medioambiente. (Environment Canada, 1999)

Si bien no se visualizó niveles de toxicidad con los modelos de *Daphnia magna* y *Lactuca sativa*, el ensayo con *Vibrio fischeri* (Microtox®), manifestó niveles leves de toxicidad ($\Delta URL < 30\%$ del total).

La presencia de los valores negativos en el ensayo de *Vibrio fischeri*, indica una estimulación del metabolismo bacteriano. Esta estimulación puede deberse a la presencia de determinados nutrientes o sustancias moduladoras del metabolismo. Estos cambios pueden estar asociados al incremento de ciertos analitos que se encontraron en el estudio fisicoquímico.

Los cursos de agua presentaban niveles de fósforo total por encima de lo establecido en la normativa nacional (Decreto 253/79) mismo desde el muestreo de aguas arriba a los establecimientos. Lo cual podría deberse a que los cursos de agua recibieran aportes de minerales y materia orgánica en algún momento aguas arriba al establecimiento.

Se observó un aumento en las concentraciones relativas del Fósforo Soluble en las muestras frente al establecimiento y aguas abajo, respecto a aguas arriba del establecimiento B, pero no así en el establecimiento A. Es posible que el curso de agua del establecimiento B esté recibiendo aportes de este mineral. Sería interesante ampliar el muestreo para confirmar el hecho. Una situación análoga se observa con el Fósforo Total en el primer muestreo del establecimiento B.

En cuanto a Nitrógeno Total y Nitratos, en ambos establecimientos se observaron variaciones relativas de los valores en los diferentes puntos de muestreo, lo que deja planteada la hipótesis de que el aumento de estos podría ser debido a un aporte de los corrales.

Cabe destacar que en ninguno de los muestreos, los niveles de nitratos superaron lo establecido por la normativa nacional, a pesar de existir variaciones relativas en los diferentes puntos de muestreo.

Debido a que la matriz empleada para este estudio es una matriz dinámica (curso de agua continuo), es difícil establecer directamente que elementos de la misma fueron aportados propiamente por los corrales.

Para poder afirmar estas hipótesis sería necesario realizar un estudio con mayor número de muestreos y más extendido en el tiempo, de tal forma de contar con un respaldo estadístico de los valores obtenidos.

Un estudio complementario podría ser el análisis de los sedimentos de estos cursos de agua, ya que en ellos precipitan elementos que reflejan de una forma estática el estado de situación. (García y col, 2017)

Otra matriz que sería interesante investigar sería una el agua subterráneo, ya que nos brindaría información sobre los posibles efectos de contaminación de estas matrices.

6. Conclusiones:

En los estudios realizados con *Latuca sativa* y *Daphnia magna* no se detectaron niveles de toxicidad. Mientras que con el modelo de *Vibrio fischeri* se detectaron niveles de toxicidad leve en todos los puntos del muestreo.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, los cursos de agua previo al ingreso a los establecimientos ya se encontraban con niveles de Fósforo Total por encima de lo establecido en la normativa. No obstante se pudo observar variaciones en las concentraciones relativas en los diferentes puntos de muestreo y establecimientos para las concentraciones de Fósforo Total, Fósforo Soluble, Nitratos y Nitrógeno Total a medida que el curso de agua avanza por los puntos de muestreo.

Bibliografía:

Achkar, M; Dominguez, A; Pesce, F. (2012). Cuenca del Santa Lucia, aportes para la discusión ciudadana. Disponible en: <https://www.redes.org.uy/2012/12/12/cuenca-del-rio-santa-lucia-uruguay-aportes-para-la-discusion-ciudadana/> Fecha de consulta: 21/04/18.

Álvarez, A; D'Elía, M; Paris, M; Fasciolo, G; Barbazza, C. (2011). Evaluación de la contaminación de acuíferos producida por actividades de saneamiento y re-uso de efluentes en el norte de la provincia de Mendoza. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina. 43(1): 19-39. Disponible en: http://revista.fca.uncu.edu.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=117:evaluacion-de-la-contaminacion-de-acuiferos-producida-por-actividades-de-saneamiento-y-re-uso-de-efluentes-en-el-norte-de-la-provincia-de-mendoza&catid=11:no-1-ano-2011&Itemid=16 Fecha de consulta: 25/04/18.

Apa, M; Del Campo, M. (2009). Relevamiento del Desempeño Ambiental del Sector Engorde a Corral, Proyecto BID (URU 07/12). Disponible en: <http://www.mvotma.gub.uy/portal/ciudadania/biblioteca/marco-legal/item/10003039-relevamiento-del-desempeno-ambiental-del-sector-engorde-a-corral.html> Fecha de consulta: 23/04/18.

APHA. American Public Health Association (1998), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed., American Public Health Association, Washington, pp. 8-20, 8-23. Disponible en: <https://archive.org/details/standardmethods1936amer> Fecha de consulta: 25/04/18.

APHA-AEEA-WPCF. (1992), Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales, Madrid, Díaz de Santos, 1576 pp. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/288385775/Metodos-normalizados-para-el-analisis-de-aguas-potables-y-residuales> Fecha de consulta: 25/04/18.

Bowers, N; Pratt, J; Beeson, D; Lewis, M. (1997), "Comparative Evaluation of Soil Toxicity using Lettuce Seeds and Soil Ciliates", Environmental Toxicology and Chemistry 16 (2), 207213. Disponible en: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/etc.5620160216> Fecha de consulta: 25/04/18.

Castillo, G. 4a (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México: IMTA, 2004. Canadá: IDRC, 2004; 189 pp. Disponible en: <https://www.idrc.ca/en/book/ensayos-toxicologicos-y-metodos-de-evaluacion-de-calidad-de-aguas-estandarizacion> Fecha de consulta: 25/04/18.

CETESB Compañía de Tecnología de Saneamiento Ambiental (1991), Agua-Teste de Toxicidade com D. similis Clauss 1876 (Cladocera, Crustacea), Metodo de essaio, L5.018, agosto, 1991, CETESB.

Cheung, Y.H; Wong, M.H; Tam, N.F.Y. (1989), "Root and Shoot Elongation as an Assessment of Heavy Metal Toxicity" and "Zn Equivalent Value' of Edible Crops", *Hydrobiologia* 188/ 189, 377-383. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00027803> Fecha de consulta: 25/04/18.

Dutka, B. (1989). Short-Term Root Elongation Toxicity Bioassay. *Methods for Toxicological Analysis of Waters, Wastewaters and Sediments*, National Water Research Institute (NWRI), Environment Canada, 320p.

Dutka, B.J. (1989), *Methods for Microbiological and Toxicological Analysis of Water, Wastewaters and Sediments*. Burlington, NWRI, 140 p.

Edley, M.T; Law, R. (1988). Evolution of Life Histories and Yields in Experimental Population of *Daphnia magna*, *Biol. J. Limn. Soc.*, 34: 309-326. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1095-8312.1988.tb01966.x> Fecha de consulta: 25/04/18.

Elendt, B.P; Bias, W.R. (1990). "Trace Nutrient Deficiency in *Daphnia magna* Cultured in Standard Medium for Toxicity Testing Effects of the Optimization of Culture Conditions on Life History Parameters of *Daphnia magna*", *Wat. Res.* 24 (9): 1157-1167. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/004313549090180E> Fecha de consulta: 25/04/18.

Ellis, R.H; Hong, T.D; Roberts, E.H. (1985), *Handbook of Seed Technology for Genebanks*, Vol.1 Principles and Methodology, International Board of Plant Genetic Resources, Rome, V.1. 210 pp. Disponible en: <https://www.biodiversityinternational.org/e-library/publications/detail/handbook-of-seed-technology-for-genebanks-1/> Fecha de consulta: 25/04/18.

Environment Canada. (1992). Biological test method: toxicity test using luminescent bacteria. EPS 1/RM/24. Ottawa, environment Canada, 75 p. Disponible en: <http://publications.gc.ca/site/eng/9.579452/publication.html> Fecha de consulta: 25/04/18.

Environment Canada. (1999). *Guidance Document on Application and Interpretation of Single-species Tests un Environmental Toxicology*. EPS 1/RM/34. Disponible en: <http://publications.gc.ca/site/eng/9.579411/publication.html> Fecha de consulta: 25/04/18.

Garcia, J; Lercari, D; Araujo, B. F; Almeida, M. G; Rezende, C. E. (2017). Total and extractable elemental composition of the intertidal estuarine biofilm of the Río de la Plata: Disentangling natural and anthropogenic influences. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0272771416307806?via%3Dihub> Fecha de consulta: 25/04/18.

Girling, A.E; Garforth, B. M. (1989). Influence of Variations in Culture Medium on the Survival and Reproduction of *Daphnia magna*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*

42:119-125. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF01699212>
Fecha de consulta: 25/04/18.

Goulden, C.E; Hendrickson, J.A; Comotto, R. M; Johnson, K. L. (1982), Procedures and Recomendations for the Culture and Use of Daphnia in Bioassay Studies, Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Fifth Conference, ASTM STP 766, J. G. Pearson, R. B. Foster & W. E. Bishop, eds., American Society for Testing and Materials, pp. 139-160. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/236617848_Procedures_and_recommendations_for_the_culture_and_use_of_Daphnia_in_bioassay_studies Fecha de consulta: 25/04/18.

Grünwaldt, E. G; Guevara, J. C. (2011). Rentabilidad del engorde a corral de bovinos de carne en la provincia de Mendoza, Argentina. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. Rev. FCA UNCUYO. 2011. 43(2): 21-34. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1853-86652011000200002 Fecha de consulta: 25/04/18.

Gutiérrez, L.E. (1989). Procedimientos de evaluación tóxica de efluentes industriales líquidos utilizando Daphnia magna Straus (Cladóceras, Crustácea), Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, México, 105 p.

Hernandez, A. (2011). Alternativas de gestión de efluentes y residuos sólidos en establecimientos de engorde a corral. Jornada técnica: Prevención de los impactos ambientales de establecimientos de engorde a corral. DINAMA-Sociedad Rural de Durazno, 23 de Junio 2011.

Kaiser, K. (1991). Photobacterium phosphorum toxicity data index, Water poll. Canada, volumen 26, Número 3, página 361 a 431. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/269930701_Photobacterium_phosphoreum_Toxicity_Data_Index Fecha de consulta: 25/04/18.

Klüttgen, B; Dülmer, U; Engels, M; Ratte, H.T. (1994). A Dam and Artificial Freshwater for the Culture of Zooplankton, Water Research, 28 (3): 743-746. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0043135494901570> Fecha de consulta: 25/04/18.

Lewis, M.A; Maki, A. W. (1981). Effects of Water Hardness and Diet on Productivity of Daphnia magna Strauss, in Laboratory Culture, Hydrobiology, 85: 175-179. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF00006627> Fecha de consulta: 25/04/18.

Mazzeo, N. (2010). Bases técnicas para el manejo integrado de Laguna del Sauce y cuenca asociada, Capitulo 5, pag 31. Disponible en: <https://issuu.com/institutosaras/docs/laguna-del-sauce/6> Fecha de consulta: 23/04/18.

MVOTMA. Ministerio de Vivienda Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente. Manual para procedimientos analíticos para muestras ambientales, 3ra edición, agosto (2017). Técnica 6159UY. Disponible en: <http://www.mvotma.gub.uy/portal/ciudadania/item/10009590-manual-de-procedimientos-analiticos-para-muestras-ambientales-tercera-edicion-2017.html>
Fecha de consulta: 25/04/18.

OECD. Organization for Economic Cooperation and Development (1984), Terrestrial Plants: Growth Test. Guideline for Testing of Chemicals N° 208, OECD Publications Service, Paris. Disponible en: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-208-terrestrial-plant-test-seedling-emergence-and-seedling-growth-test_9789264070066-en
Fecha de consulta: 25/04/18.

Rahman, S; Scherer, T; Rahman, A; Lang, J. (2013). Water Quality of Runoff From Beef Cattle Feedlots; North Dakota State University, Fargo, Extension services (NDSU). Disponible en: <https://www.ag.ndsu.edu/publications/environment-natural-resources/water-quality-of-runoff-from-beef-cattle-feedlots> Fecha de consulta: 25/04/18.

Scarone, S. (2002). Los bioensayos como Herramienta de Evaluación de la toxicidad de los efluentes industriales ellas en Uruguay. Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente-Intendencia Municipal de Montevideo-LATU-Universidad de la República (Facultad de Ciencias). Montevideo. Disponible en: http://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/25000/mod_resource/content/1/toxicidad%20bioensayos%20idrc.pdf Fecha de consulta: 25/04/18.

US EPA. (1989), Protocols for Short Term Toxicity Screening of Hazardous Waste Sites, US Environmental Protection Agency, 600/3-88/029, Corvallis. Disponible en: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/2000HUXX.TXT?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=1986+Thru+1990&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&IntQFieldOp=0&ExtQFieldOp=0&XmlQuery=&File=D%3A%5Czyfiles%5CIndex%20Data%5C86thru90%5CTxt%5C00000007%5C2000HUXX.txt&User=ANONYMOUS&Password=anonymous&SortMethod=h%7C-&MaximumDocuments=1&FuzzyDegree=0&ImageQuality=r75g8/r75g8/x150y150g16/i425&Display=hpfr&DefSeekPage=x&SearchBack=ZyActionL&Back=ZyActionS&BackDesc=Results%20page&MaximumPages=1&ZyEntry=1&SeekPage=x&ZyPURL>
Fecha de consulta: 25/04/18.

US EPA. Environmental Protection Agency. (1991). Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluent and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms, 4th ed, Efluentes, ed., EPA-600/4-90-027.

Wang, W. (1987), Root Elongation Method for Toxicity Testing of Organic and Inorganic Pollutants. Environmental Toxicology & Chemistry, 6:409-414. Disponible en: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/etc.5620060509> Fecha de consulta: 25/04/18.