



Uleam
UNIVERSIDAD LAICA
ELOY ALFARO DE MANABÍ



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES Y AMBIENTE

TRABAJO DE TITULACIÓN DE TERCER NIVEL:

MODALIDAD: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

"Evaluación de la toxicidad del efluente que atraviesa la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí: *Daphnia magna* y *Eisenia foétida* como bioindicadores"

Autores de Tesis:

Delgado Reyes Giovanni Javier

González Chere Jalicsa Berenise

Tutora:

Dra. Dayanara Macías Mayorga PhD.

Ecuador - Manabí - Manta 2019

UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS DE GRADO

"Evaluación de la toxicidad del efluente que atraviesa la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí: *Daphnia magna* y *Eisenia foétida* como bioindicadores"

Trabajo de titulación presentada al H. Consejo Directivo de la Facultad Ciencias Agropecuarias como requisito para obtener el título de:

INGENIERO/A EN RECURSOS NATURALES Y AMBIENTALES

Ing. Yessenia García Montes Mg. SC

DECANA DE LA FACULTAD

Dra. Dayanara Macías Mayorga PhD.

TUTOR/A DE TESIS

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Ing. Xavier Anchundia Muentes, Msc.

Ing. Paulina Espinoza Zambrano, Msc.

Ing. Ángel Pérez Bravo, Msc.

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Dra. Dayanara Macías Mayorga, Docente Titular Principal de la Facultad Ciencias Agropecuarias, certifico que el **Sr. Giovanni Javier Delgado Reyes** realizó el Trabajo de Investigación titulado "Evaluación de la toxicidad del efluente que atraviesa la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí: *Daphnia magna* y *Eisenia foétida* como bioindicadores", bajo mi dirección y responsabilidad. El mismo ha sido desarrollado previo a la obtención del título de Ingeniería en Recursos Naturales y Ambientales, de acuerdo a la modalidad de titulación Proyecto de Investigación de tercer nivel de la Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí (ULEAM).

Dra. Dayanara Macías Mayorga PhD

Directora de Trabajo de Investigación

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Dra. Dayanara Macías Mayorga, Docente Titular Principal de la Facultad Ciencias Agropecuarias, certifico que el **Srta. Jalicsa Berenise González Chere** realizó el Trabajo de Investigación titulado "Evaluación de la toxicidad del efluente que atraviesa la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí: *Daphnia magna* y *Eisenia foétida* como bioindicadores", bajo mi dirección y responsabilidad. El mismo ha sido desarrollado previo a la obtención del título de Ingeniería en Recursos Naturales y Ambientales, de acuerdo a la modalidad de titulación Proyecto de Investigación de tercer nivel de la Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí (ULEAM).

Dra. Dayanara Macías Mayorga PhD

Directora de Trabajo de Investigación

DECLARACIÓN DEL ESTUDIANTE

Yo, **Giovanny Javier Delgado Reyes**, declaro bajo juramento que el trabajo de investigación aquí descrito es de mi autoría. El mismo fue realizado en el marco del proyecto "Evaluación de la toxicidad del efluente que atraviesa la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí: *Daphnia magna* y *Eisenia foétida* como bioindicadores" ejecutado desde la Facultad Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, bajo la dirección de Dayanara Macías Mayorga PhD. Este trabajo no ha sido presentado previamente para ningún grado o calificación profesional y se han consultado todas las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

Giovanny Javier Delgado Reyes

DECLARACIÓN DEL ESTUDIANTE

Yo, **Jalicsa Berenise González Chere**, declaro bajo juramento que el trabajo de investigación aquí descrito es de mi autoría. El mismo fue realizado en el marco del proyecto "Evaluación de la toxicidad del efluente que atraviesa la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí: *Daphnia magna* y *Eisenia foétida* como bioindicadores" ejecutado desde la Facultad Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, bajo la dirección de Dayanara Macías Mayorga PhD. Este trabajo no ha sido presentado previamente para ningún grado o calificación profesional y se han consultado todas las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

Jalicsa Berenise González Chere

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por ser el guía de mi camino a lo largo de nuestra existencia, por servir de apoyo y fortaleza en los momentos complicados de la vida, donde crees que avanzar es imposible.

Agradezco a mi Mamá, a mi Abuela Materna y a mi hermano que, aunque ya no estén presentes en este mundo, siempre han sido y son un pilar fundamental para mi desarrollo como persona, y seguirán siendo ese motor que impulsa aun cuando sea profesional.

De igual forma, agradezco a mi chica Jalicsa. Mujer especial en mi vida que desde inicios de la carrera siempre estuvo ahí como mi confidente y amiga. Es infinita mi gratitud hacia ella que solo puedo decirle que la Amo y gracias por todo.

Quiero extender mi gratitud a mi Papá, a su esposa, a mis hermanos por apoyarme en momentos que más he necesitado, por extenderme su mano en momentos difíciles y el amor brindado siempre.

Mi profundo agradecimiento a nuestra tutora, la Dra. Dayanara Macías Mayorga PhD quien con la enseñanza de sus valiosos conocimientos me ha hecho crecer como persona y como profesional. Ha sido tal el impacto que durante sus cátedras deslumbraba destellos de sabiduría, entonces decidí que durante mi proceso de titulación iba a ser mi tutora y bueno no me queda más que agradecerle infinitamente por la paciencia, dedicación, apoyo incondicional y una excelente amistad.

Del mismo modo mi más profundo agradecimiento a la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, a la facultad de ciencias agropecuarias, a los docentes que a lo largo del camino fueron ejes principales en nuestra formación como estudiantes, a los amigos, colegas y demás personal que siempre creyeron e hicieron que el camino se placentero, GRACIAS.

Giovanny Javier Delgado Reyes, 2019.

DEDICATORIA DEL ESTUDIANTE

El presente trabajo investigativo está dedicado en la memoria de mi Madre Ángela Inés Reyes, de mi Abuela Materna Rosa América Intriago, de mi Hermano Marco Delgado Reyes, quienes desde pequeño me animaron y me enseñaron, que los sueños si los deseas desde dentro pueden hacerse realidad.

Hoy que ya no se encuentran con nosotros, siguen siendo un pilar fundamental. Aquel motor que impulsa a que pueda cumplir mis anhelos y metas. Sin lugar a dudas vuestras enseñanzas inculcadas, los valores recibidos y vuestra fortaleza en tiempos de antaño; hacen que nunca quiera rendirme y siempre buscar esa salida a la felicidad, que al final es lo que cuenta... Con amor y lágrimas de felicidad, vuestro hijo, nieto y hermano Giovanni Delgado Reyes.

Giovanny Javier Delgado Reyes, 2019

AGRADECIMIENTO

“**El agradecimiento es la memoria del corazón**” (Lao Tsé). A través de estas líneas quiero expresar a cada uno de las personas que han sido parte de esta anhelada meta y principalmente a:

Dios, gracias por tu infinito amor y tu bondad, por permitir cada uno de mis logros, los cuales son resultado de tu ayuda, por cada día en el que me permitió despertar no solo con vida, sino también con salud, fuerza y empeño; por cada detalle y momento que has dado a mi vida, los cuales tienen un fin de grandeza y enseñanza, para hacerme crecer como mejor persona.

A mis padres por ser los principales promotores de mis sueños, quienes a pesar de las circunstancias supieron educarme y enseñarme que la vida está llena de muchos obstáculos y que siempre hay que superarlos, teniendo a Dios como nuestro guía.

A mis hermanos por formar parte de ese equipo tan bonito, al cual denominamos: **familia**; quienes han estado y están de manera incondicional brindándome su apoyo sin dudar ni un momento.

A mi amigo, confidente y amor, al cual Dios ha puesto en mi camino; **Giovanny Delgado**, gracias por todo; por tu paciencia y porque cada experiencia es única; por ser ese ingrediente mágico para poder lograr alcanzar esta dichosa y muy merecida meta.

Y finalmente quiero expresar mi más sincero agradecimiento a nuestra tutora: **Dayanara Macías Mayorga PhD**, quien con su dirección, conocimiento, enseñanzas y continua colaboración permitió que este trabajo fuese posible; también agradecer a nuestra institución la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí; por ser la sede de todo el conocimiento adquirido a lo largo de estos años, mis agradecimientos infinitos.

Jalicsa González, 2019

DEDICATORIA DEL ESTUDIANTE

A Dios, por ser el eje de mi vida, quien ha guiado cada uno de mis pasos para poder cumplir este reto, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente.

A mis padres, por ser el pilar fundamental en todo lo que soy; en toda mi educación, tanto en la vida, como en la académica, por su apoyo que se ha mantenido a través del tiempo y las distancias; a ellos dedico este trabajo por ser mi soporte durante todo el periodo de estudio.

Jalicsa González,2019

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	XIV
SUMARY	XV
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1.1. Ecotoxicología.....	1
1.1.2. El agua	1
1.1.3. Deterioro de la calidad del agua	1
1.1.4. Bioensayos en el medio ambiente	2
1.1.5. Ensayos biológicos	2
1.1.6. Condiciones de organismos.....	3
1.1.7. Prueba de toxicidad.....	3
1.1.8. Tipos de pruebas de toxicidad	3
1.1.9. CL50	3
1.1.10. Caracterización de las muestras.....	4
1.1.11. Bioensayos con cladóceros	4
1.1.12. Bioensayo con lombrices de tierra.....	5
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
3. JUSTIFICACIÓN	8
4. HIPÓTESIS.....	9
5. OBJETIVOS	10
5.1. OBJETIVO GENERAL.....	10
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
II. METODOLOGÍA	11
2.1. Ubicación	11
2.1. Puntos de muestreo	12
2.2. Selección de organismos.....	13
2.2.1. <i>Daphnia magna</i> , (pulga de agua).....	13

2.2.2.	Preparación de material antes de la prueba	13
2.2.3.	Fundamento de método.	14
2.2.4.	Materiales y equipos	14
2.3.	Diagrama de flujo de las actividades vinculadas al desarrollo de bioensayo de toxicidad aguda con <i>D. magna</i>	16
2.4.	Bioensayo de toxicidad con la especie <i>E. foétida</i> (Lombriz de tierra).....	17
2.4.1.	Fundamento de método.....	17
2.4.2.	Materiales y equipos	18
2.4.3.	Diagrama de flujo del bioensayo con las lombrices de tierra (<i>Eisenia foétida</i>)	19
III.	RESULTADOS	20
3.1.	Parámetros físico Químicos y microbiológico	20
3.1.1.	Resultados de agua.....	20
3.2.	Determinación de la toxicidad	22
3.3.	INDICADORES DE TOXICIDAD	23
3.3.1.	<i>D. MAGNA</i> (PULGA DE AGUA).....	23
3.3.2.	<i>E. FOÉTIDA</i> (LOMBRIZ DE TIERRA).....	24
3.3.3.	ÍNDICE DE CONDICIÓN <i>E. FOÉTIDA</i>	25
3.4.	Verificación de la hipótesis	25
IV.	DISCUSIÓN	26
V.	CONCLUSIONES	28
VI.	RECOMENDACIONES.....	29
	BIBLIOGRAFÍA	30
	ANEXOS	32
	ANEXO 1: Fotos de bioensayo de toxicidad con <i>D. magna</i> (pulga de agua)	32
	ANEXO 2: Fotos de bioensayo de toxicidad con <i>E. foétida</i> (lombriz de tierra).....	33
	ANEXO 4: Resultados de caracterización de agua y sedimento.	35
	ANEXO 5 Limites de descargas al sistema de alcantarillado publico.....	39
	ANEXO 6: Norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados.....	42

ÍNDICE TABLAS

<u>Tabla 1: resultados de análisis de agua obtenido mediante laboratorios LASA.....</u>	20
<u>Tabla 3: resultados de los parámetros de suelo, obtenido de laboratorios LASA.....</u>	21
<u>Tabla 5: Datos de la CL50 con el programa Pri-Probit .</u>	22

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Mapa general de la zona de estudio. Fuente: programa de ArGIS	11
Ilustración 2: Plano de la Red Sanitaria de Manta. Fuente: Ing Xavier Anchundia.....	12
Ilustración 3: Imagen satelital en 2D, Fuente: Airbus digitalGlobe	12

ÍNDICE DE GRAFICOS

Grafico 1:D. Magna. Número de organismos vivos posterior a la exposición en función de las 4 concentraciones del agua residual del efluente que atraviesa la ULEAM. Letras distintas indican diferencias extremadamente significativas ($p < 0.001$) con respecto al control y el 25%	23
Grafico 2:Número de organismos vivos posterior a la exposición en función de las 4 concentraciones de sedimento del efluente que atraviesa la ULEAM. Letras distintas representan diferencias extremadamente significativas con respecto al control.	24
Grafico 3:. Peso de organismos vivos posterior a la exposición en función de las 4 concentraciones de sedimento del efluente que atraviesa la ULEAM. Letras distintas representan diferencias extremadamente significativas ($p < 0.001$ al 25% y $p < 0.01$).	25

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la toxicidad del efluente que atraviesa la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, en sus compartimientos ambientales agua y sedimentos; a través de bioensayos de exposición forzada utilizando como bioindicadores a la *Eisenia foétida* (Lombriz de tierra); para analizar el sedimento problema en un periodo de 14 días; y a la *Daphnia magna* (Pulga de agua); para analizar el agua problema; en un lapso de 48h ambos fueron expuestos a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% más un control (0%), respectivamente en su compartimento; teniendo como resultados: en el ensayo con la lombriz de tierra hubo mortalidad en todas las concentraciones de exposición excepto en el control. En el caso de la pulga de agua la mortalidad se vio en las concentraciones más altas; se pudo obtener resultados en *D. Magna*, CL50-48 horas = 0,00267% y en *E. Foétida* CL50- 14 días= 0,00165%, en ambos ensayos determinando de esta manera la toxicidad que tienen este efluente.

Palabras clave: *Daphnia magna*, *Eisenia foétida*, bioensayo, CI50

SUMARY

The objective of the present work was to evaluate the toxicity of the effluent that passes through the Laica Eloy Alfaro de Manabí University, in its environmental compartments, water and sediments; through forced exposure bioassays using *Eisenia foetida* (Earthworm) as bioindicators; to analyze the sediment problem in a period of 14 days; and the *Daphnia magna* (Water Flea); to analyze the problem water; in a span of 48 hours both were exposed to concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% plus a control (0%), respectively in their compartment; having as results: in the test with the earthworm there was mortality in all the exposure concentrations except in the control. In the case of the water flea mortality was seen in the highest concentrations; it was possible to obtain results in D. Magna, LC50-48 hours = 0.00267% and in E. Foetida CL50- 14 days = 0.00165%, in both tests, thus determining the toxicity of this effluent.

Key words: *Daphnia magna*, *Eisenia foetida*, bioassay, CI50

I. INTRODUCCIÓN

1.1. MARCO TEÓRICO

1.1.1. Ecotoxicología

La ecotoxicología es definida como, “La ciencia que estudia la polución, su origen, evolución e interacciones con las moléculas que integran dinámicamente los ecosistemas, sus acciones y efectos sobre los seres vivos que forman estos ecosistemas con su evolución, como determinantes de criteriología y profilaxis biológica o socioeconómica” Capó (2007),

La ecotoxicología, descrita como un hecho antropogénico y como tal está íntimamente relacionado al ser humano y sus actividades; teniendo la finalidad de informar y alertar sobre los posibles peligros debido a la presencia de sustancias tóxicas, siendo estas naturales o antropogénicas en el medio.

1.1.2. El agua

El agua es una combinación con características únicas, de gran significación para la vida, el más abundante en la naturaleza y concluyente en los procesos físicos, químicos y biológico que gobiernan el medio natural.

1.1.3. Deterioro de la calidad del agua

El deterioro de la calidad del agua es un gran problema a escala, el cual va en aumento, y a menudo es considerado como uno de los principales problemas ambientales. Las causas principales, tanto para el agua dulce como salada; son: los vertidos incontrolados de las aguas residuales urbanas e industriales que en muchas ocasiones no se les realiza ningún tratamiento.

Para Cirelli (2012); los principales efectos que produce el agua contaminada en el medio ambiente son: contaminación microbiológica del agua, con la transmisión hídrica de

enfermedades; pérdida de ecosistemas acuáticos; riesgo de infecciones crónicas en el hombre, asociadas a la contaminación química; pérdida de la capacidad productiva en los suelos, pérdida de reserva de proteínas de los peces; pérdida de suelos por erosión.

Según Cirelli (2012); cita a Escobar y Schafer, (2010) Se puede considerar que casi todos los usos pueden contaminar el recurso y convertirlo en no disponible para otros usos, siendo indispensable un tratamiento

1.1.4. Bioensayos en el medio ambiente

Generalmente, los contaminantes suelen actuar mezclados y a veces pueden interactuar entre ellos, en consecuencia, la determinación netamente química y sus concentraciones, no suele aclarar sus posibles efectos a nivel biológico.

Es necesario, disponer de ensayos que permitan determinar los efectos de los contaminantes en un medio específico, a través de la valoración de sus posibles interacciones en organismos de prueba, cuyos resultados sean extrapolables a situaciones reales

1.1.5. Ensayos biológicos

Los ensayos se los considera para evaluar y reconocer efectos de contaminantes que pueden existir en un área, por eso como su nombre lo dice (bio = vida); son pruebas con tejidos vivo, organismos o grupos de organismos, los cuales son utilizados para evaluar los efectos de cualquier tipo de sustancia activa en un medio.

Los ensayos biológicos son herramienta de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físico y químico sobre organismos de pruebas bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento proliferación multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos, Castillo (2004).

1.1.6. Condiciones de organismos

Los organismos deben estar en condiciones óptimas como: buena salud, estar previamente aclimatadas a condiciones generadas por el tipo de ensayo, y se mantienen en condiciones ambientales constantes.

1.1.7. Prueba de toxicidad

Según Castillo (2004) permite la determinación del efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Mide las proporciones de organismo afectados (efecto cuantal) o el grado de efecto graduado luego de la exposición a la muestra.

1.1.8. Tipos de pruebas de toxicidad

Las pruebas de toxicidad según Catillo (2004); pueden clasificarse, de acuerdo a los siguientes criterios:

- El método usado para incorporar la muestra al sistema de ensayo: estático, con renovación, flujo continuo.
- El propósito para el que son usadas: control de calidad de vertidos, toxicidad relativa, evaluación de sustancias específicas, etc.
- Tiempo de duración, de acuerdo al ciclo de vida del organismo de prueba:
 - **Agudo:** se desarrollan en un periodo corto (minutos, horas o algunos días), dentro del ciclo de vida del organismo empleado.
 - **Crónico:** se desarrolla en un periodo relativo largo de exposición, que representa un lapso superior al 10% del periodo de vida del organismo de prueba.

1.1.9. CL50

Mediante la prueba de toxicidad se puede determinar en los organismos de prueba la **concentración letal media (CL50)**: donde el 50% de los organismos que son expuestos

(agua, suelo o sedimentos afectado), mueren durante el periodo determinado de exposición.

1.1.10. Caracterización de las muestras

Para seleccionar los parámetros de caracterización de las muestras tanto en agua, como en sedimento se determinan en base a su procedencia, tratamiento y destino que estas tengan.

Es por eso que deben ser evaluadas para saber de su composición y concentración, con los siguientes parámetros tanto físico, químicos y microbiológicos:

- Salinidad,
- Conductividad
- PH
- Materia orgánica total
- Oxígeno disuelto
- Nitritos
- Nitratos
- Amonio
- Fosfatos
- Coliformes fecales
- Mercurio
- Plomo.

1.1.11. Bioensayos con cladóceros

Los cladóceros más usados en este tipo de bioensayo son: las ***Daphnias*** en las cuales encontramos a: *Daphnia Magna*, *Daphnia Pulex* y *Ceriodaphnia*; estas deben ser especificadas según su clasificación y la procedencia de la cepa a utilizar.

Esta especie son filtradoras, y consumen diversas partículas entre estas las microalgas; convirtiéndolas en componente importante para los ecosistemas acuáticos.

El experimento se basa en la determinación de los efectos que se pueden dar en el organismo los cuales pueden ser: inmovilización o mortalidad; en un periodo de tiempo de 48 horas.

1.1.12. Bioensayo con lombrices de tierra

El bioensayo con lombrices, es utilizado para evaluar la toxicidad de los suelos, por lo general contaminados con hidrocarburos; llegando a tener resultados sobre el impacto que se genera en los organismos de prueba

Estas pruebas son utilizadas en laboratorio; como en el campo, para monitorear suelos que están en proceso de biorremediación, debido a que el toxico puede a evolucionar en el proceso de biorremediación. Es decir; tienden a transformar metabolitos más tóxicos.

Los bioensayos de exposición forzada tienen una duración de 14 días por la cual se mide la mortalidad a través de concentraciones letal media (CL50); concentración del suelo problema ocasionando la muerte en los organismos, quien es este caso son las lombrices de tierra.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el Ecuador, se cuenta con una gran cantidad de recursos hídricos mismos que están siendo afectados por el indebido manejo que se les da a las cuencas hidrográficas, causado principalmente por las actividades antropogénicas que ocasionan el ingreso de contaminantes a los cuerpos de agua, ríos y quebradas dentro del territorio nacional, estos han sido durante años el principal medio de decantación de aguas de todo tipo procedentes de viviendas, negocios, empresas mayores, etc.

El crecimiento demográfico, la falta de alcantarillado y la falta de controles y mecanismos que posibiliten poner en práctica la legislación ambiental vigente, ha logrado que los océanos, ríos especialmente de las zonas urbanas, hayan experimentado daños severos en su calidad, es entonces que muchos ya han perdido su utilidad como fuentes de captación de agua para potabilización, recreación, turismo, y valor paisajístico.

En Ecuador, el manejo de las aguas residuales no es un fuerte y se puede decir que se encuentra colapsado, y aunque en la actualidad existe el Código Orgánico Ambiental (COA) que regula la disposición de aguas residuales de diferente procedencia, este no se cumple de la mejor manera.

El suelo como parte principal por donde atraviesan este tipo de efluentes se ve involucrado y comprometido, siendo uno de los elementos fundamentales para el desarrollo de la vida, ya que son habitad, sostén y alimento de un sinnúmero de especies, interviniendo en el ciclo del agua, entre otros ciclos fundamentales. La mayoría de las actividades antropogénicas los afectan de una u otra manera, sin embargo, muchas de estas dañan los suelos, alteran su calidad e incluso podrían tornarlo totalmente inhabitable.

Se puede considerar a un suelo degradado, aquellos que son contaminados por sustancias a niveles que resultan negativos en el comportamiento de los mismos, este el

caso de suelos con presencia elevada de metales pesados considerándose tóxico para los organismos presentes, afectando las funciones ecológicas.

Los bioensayos o ensayos biológicos valoran el efecto de los contaminantes en los organismos vivos, mismo que consisten en medir la toxicidad de los contaminantes, sometiendo a algún ser vivo a distintas concentraciones.

El presente proyecto de investigación se propuso evaluar la potencial toxicidad del efluente que atraviesa la Uleam en los compartimentos ambientales agua y sedimento, mediante bioensayos de toxicidad con los organismos *D. magna* (pulga de agua) y *E. foétida* (lombriz de tierra).

El área de objeto de estudio se encontró dentro de los predios de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí (UELAM), donde se debe contemplar que el efluente; son aguas ilícitas que circulan en un canal seco o quebrada seca, este efluente tiene origen en la Ciudadela los Eléctricos, pero dentro de su recorrido por la Uleam también se evacúan aguas ilícitas de la zona central de la Uleam y que consecuentemente está realizando una afectación en sus compartimentos: agua y sedimento.

3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el inconveniente más evidente y palpable con respecto al control ambiental es la contaminación de vertidos clandestinos y efluentes que llegan a cuerpos de agua naturales, esto afecta de manera significativa al entorno y los ecosistemas que no pueden desarrollarse de la mejor manera y verse comprometidos a cambios severos, afectando el equilibrio natural. Dichos cambios en los parámetros naturales son: aumento o disminución del pH, disminución de oxígeno, conductividad, materia orgánica, Coliformes, etc. Causando severos daños a las especies que habitan estos ecosistemas.

El efecto de los contaminantes en los organismos se valora mediante pruebas controladas de laboratorio conocidas como ensayos biológicos o "bioensayos", los que consisten en medir la toxicidad de los contaminantes ya sea en forma individual o en mezcla, sometiendo deliberadamente a algún ser vivo a distintas concentraciones de éstos (Moreno M, 2003).

La evaluación de los efectos de los contaminantes a nivel biológico, es difícil de estimar directamente en un ecosistema, debido a que éstos son complejos, multivariados y simultáneamente expuestos a una gran variedad de estresores con efectos acumulativos que son escasamente entendidos; para determinar la calidad del ambiente con diferentes procedencias (Cervantes F, 2012).

Se debe apoyar ineludiblemente con análisis químicos cuantitativos y cualitativos, que permitan correlacionar la concentración e inestabilidad de los contaminantes que generen efectos biológicos ante la problemática previamente expuesta.

Los bioindicadores utilizados tienen excelente reputación por ser organismos base y fundamentales para el desarrollo de este proyecto. Se utilizó *Daphnia magna* (pulga de agua) para el agua obtenida del efluente y *Eisenia foétida* (lombriz de tierra) para el sedimento, que apoyados en la caracterización fueron vitales en el estudio.

Los resultados obtenidos a partir de este proyecto de investigación, pueden servir de insumo a las autoridades competentes para que puedan tomar medidas para subsanar este problema ambiental.

4. HIPÓTESIS

Las especies *Daphnia magna* (pulga de agua) y *Eisenia foétida* (lombriz de tierra) si pueden ser utilizados como bioindicadores para evaluar la potencial toxicidad del efluente de la Uleam.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la potencial toxicidad del efluente que atraviesa la Uleam en los compartimentos ambientales agua y sedimento, mediante bioensayos de toxicidad con los organismos *D. magna* (pulga de agua) y *E. foétida* (lombriz de tierra).

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar las muestras de agua y sedimento procedente del efluente que atraviesa la Uleam.
- Determinar la potencial toxicidad del efluente de la Uleam mediante un ensayo de exposición forzada con la especie *D. magna*.
- Determinar la potencial toxicidad del sedimento que está en contacto con el efluente que atraviesa la Uleam mediante un ensayo de exposición forzada con la especie *E. foétida*
- Calcular la concentración letal media (CL50) en los ensayos de toxicidad realizados con la pulga de agua y la lombriz de tierra.

II. METODOLOGÍA

2.1. Ubicación

El área de estudio se encuentra la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí en el Efluente que atraviesa dicha área, la cual está localizada al sur del cantón Manta perteneciente a la provincia de Manabí de la República del Ecuador; con sus coordenadas: 17 M 52.84208; 98.94863 delimitando con las siguientes áreas:

- Al Norte, Canchas sintéticas “ULEAM”
- Al Sur, Facultad de Informática y Estadio Universitario.
- Al Este, Área de transporte universitario
- Al Oeste, Facultad Ciencias Agropecuarias y Facultad de Trabajo Social.

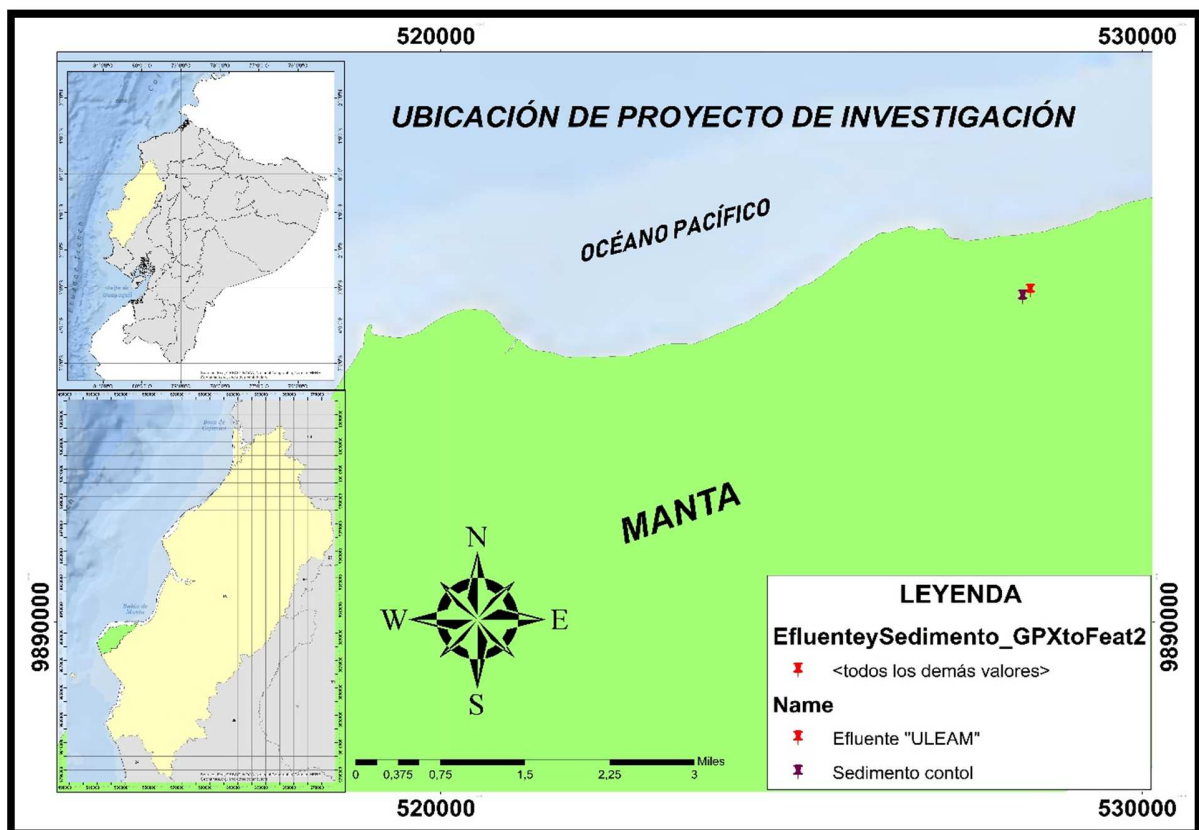


Ilustración 1: Mapa general de la zona de estudio. Fuente: programa de ARGIS



Ilustración 2: Plano de la Red Sanitaria de Manta. Fuente: Ing Xavier Anchundia

Sus coordenadas son:

NOMBRE	COORDENADAS	FECHA
Efluente "ULEAM"	17 M 528408 9894863	1/2/2019 10:48

2.1. Puntos de muestreo

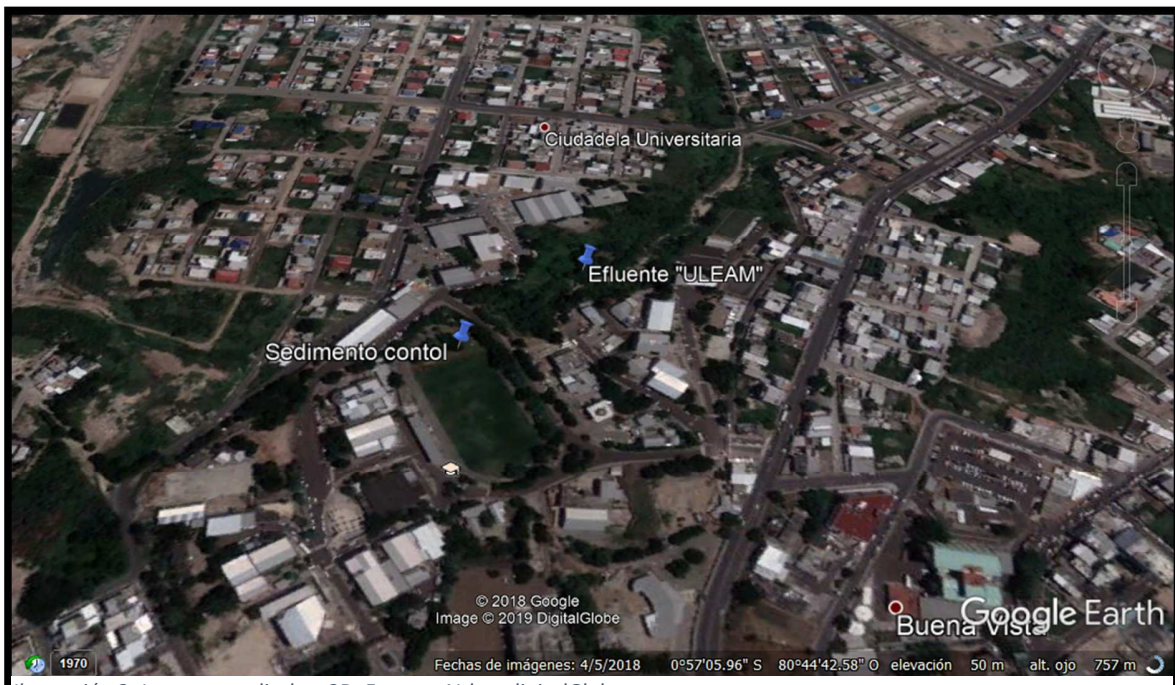


Ilustración 3: Imagen satelital en 2D, Fuente: Airbus digitalGlobe

Puntos específico con imágenes de corroboración del área de estudio, (**ver anexo 3**)

2.2. Selección de organismos

La selección de los organismos de prueba, nos permite tener una adecuada información de los bioensayos y resultados representativos de lo que puede suceder en el ambiente que va a ser evaluado; para generar información real de lo que sucede con los contaminantes que llegan al medio acuático, como terrestre.

En el presente estudio toxicológico se utilizaron especies bioindicadores como: *Daphnia magna* (pulga de agua), y *Eisenia foétida* (lombriz de tierra).

2.2.1. *Daphnia magna*, (pulga de agua).

Daphnia magna es del orden de los cladóceros de la clase crustáceo del zooplancton de agua dulce, conocido comúnmente como: pulga de agua, vive de manera natural en lagos, lagunas etc., miden entre 1 y 3 mm.

Se alimentan de microalgas sirviendo a su vez como alimento vivo para peces, esta especie tiene un ciclo de vida corto de 3 a 4 semanas, son de reproducción partenogénesis (parthenos = virgen), es decir que los huevos tienden a desarrollarse sin previa fecundación.

Especies como *D. magna*, *D. pulex*, y *D. similis*, son utilizadas extensivamente en pruebas de toxicidad, por lo cual existe una extensa información sobre las técnicas de cultivo, los requisitos de temperatura, luz y nutrientes, así como su respuesta a muchos compuestos tóxicos; con *Daphnia magna* permiten determinar la letalidad potencial de sustancias puras, aguas residuales domésticas e industriales, lixiviados entre otros, (Ramírez Romero P, et al,2008).

2.2.2. Preparación de material antes de la prueba

Para garantizar la calidad de las respuestas de los organismos de prueba, se debe evitar cualquier posible interacción o alteración. Es fundamental controlar y estandarizar las

condiciones para el mantenimiento de la cepa para el desarrollo del cultivo y la obtención de los neonatos para la evaluación de toxicidad aguda.

2.2.3. Fundamento de método.

Para el bioensayo de exposición forzada se utilizaron vasos de precipitación de 150mL. La muestra de agua procedente del efluente se procedió a diluir con agua de cultivo (agua destilada). Se realizaron cuatro concentraciones de exposición (25%, 50%, 75% y 100% de agua residual) más un control (0% de agua residual) las cuales fueron evaluadas.

Se utilizaron un total de 150 organismos (neonatos de 24horas); donde se colocaron 10 organismos en cada recipiente; todos los tratamientos de exposición fueron evaluados con sus respectivas replicas

El ensayo tuvo una duración de 48horas; una vez finalizado se procedió a cuantificar el número de los organismos muertos por cada una de sus réplicas.

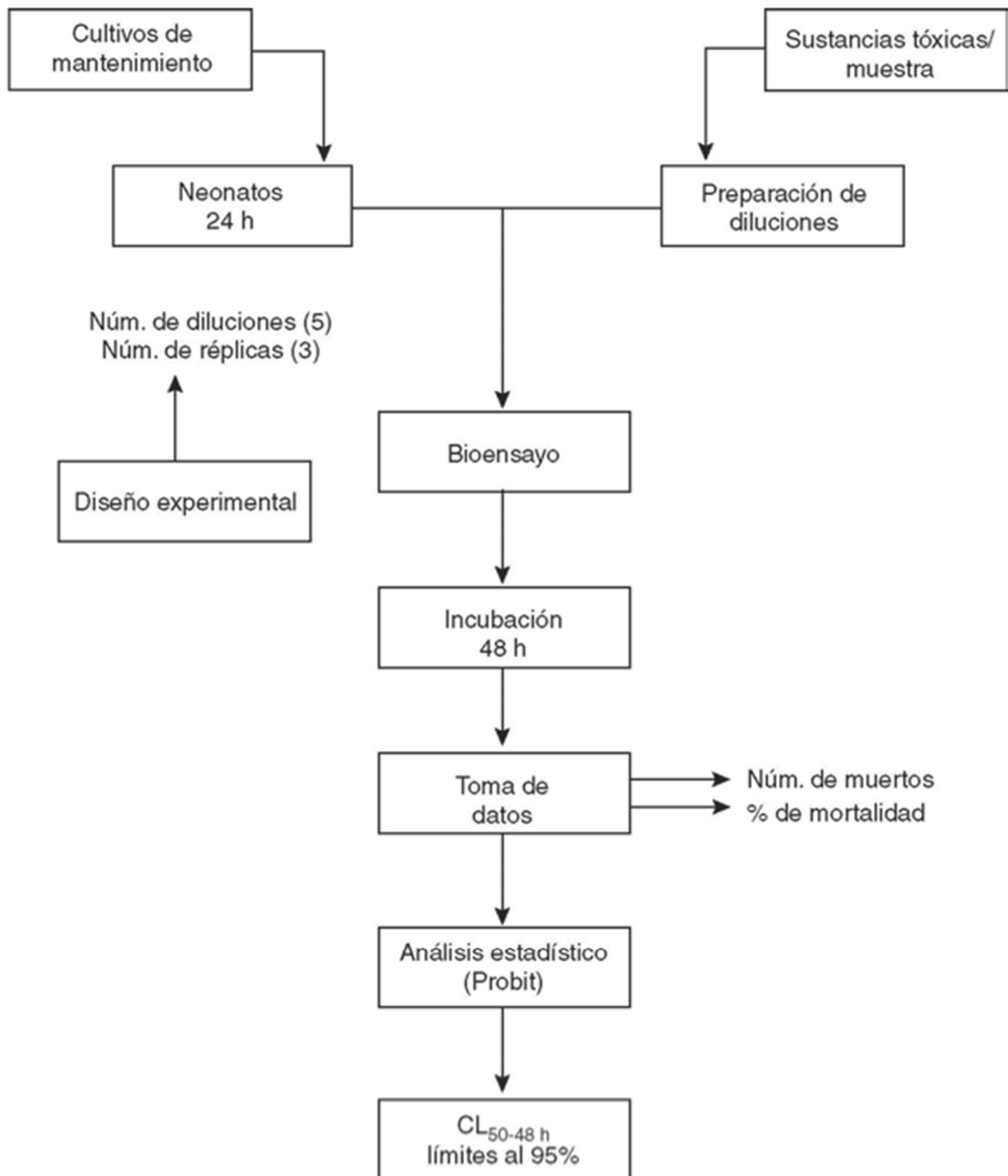
Según Castillo (2004); la muerte se reconoce por la carencia de movilidad o la ausencia de ritmo cardiaco. Antes de efectuar las lecturas se agitan los recipientes en forma circular para reactivar el movimiento de los organismos que se posan inmóviles en el fondo. Aquellos que no presenten movilidad pueden observarse con un estereoscópico para confirmar la ausencia de ritmo cardiaco.

2.2.4. Materiales y equipos

- 2 Acuarios de 3 L de capacidad.
- 15 Vaso de precipitado de 150ml.
- 2 Vasos de precipitación de 500ml.
- Pipetas volumétricas desechables de 3ml.
- Hielera
- Agua destilada
- Microscopio
- Controlador de temperatura ambiente (equipo de aire acondicionado).

- Refrigerador (4 ± 2 °C).
- Multiparametros (conductividad, salinidad)
- Tirillas de pH.

2.3. Diagrama de flujo de las actividades vinculadas al desarrollo de bioensayo de toxicidad aguda con *D. magna*.



Fuente: Castillo (2004)

2.4. Bioensayo de toxicidad con la especie *E. foétida* (Lombriz de tierra)

La lombriz de tierra (*Eisenia foétida*) se encuentra dentro del grupo de los anélidos terrestre, los oligoquetos tienen en la lombriz su actor más apreciable. Es un organismo biológicamente simple, está constituido de 80% al 90 % de agua en su peso total estas pueden llegar a medir de 3 a 10cm y de 3 a 5 mm de diámetro y llegar a pesas 1 gramo; estas tienen un ciclo de vida con duración de 3 a 4 años y se reproducen una vez por semana según su fecundación, por ser hermafroditas; es decir poseen ambos sexos.

Las lombrices de tierra son un grupo fundamental de la fauna del suelo, ya que constituyen gran parte de la biomasa animal edificadora en varios ecosistemas, tanto en zonas templadas como tropicales. Así mismo, desempeñan un papel ecológico primordial por su influencia en la descomposición de la materia orgánica, el desarrollo de la estructura del suelo y el ciclo de los nutrientes. Las lombrices se emplean con frecuencia como organismos de prueba para evaluar la toxicidad de los suelos, (Cuevas Díaz M, et al, 2012).

2.4.1. Fundamento de método

Para la evaluación del sedimento que está en contacto con el efluente de la Uleam se realizará un ensayo de exposición forzada con la especie *E. foétida*.

Antes de iniciar las pruebas, las lombrices vaciaron sus intestinos, para lo cual se depositarán en cajas de Petri sobre papel filtro humedecido con agua destilada, durante 5 h ver anexo (ilustración 1,2.) Una vez finalizado las 5 horas se procedió a lavarlas, secarlas y pesarlas.

En los recipientes de vidrio (\pm 4.5 cm de diámetro y 7 cm de altura) se depositaron 100 g de sedimento problema con una humedad del 45 % y un pH entre 6 y 8. El sedimento control (0%) y las réplicas (concentraciones de 25% 50% 75% y 100%) logrando mantenerlas en las mismas condiciones de humedad y pH. Posteriormente se colocarán 10 lombrices por recipiente, donde fueron cubiertas con una tela sintética: organiza;

evitando la pérdida de humedad, pero esta permitió que exista circulación de aire dentro de los recipientes.

Los recipientes se mantienen a temperatura ambiente con luz continua. Transcurridos los primeros 7 días, se vació el contenido de cada recipiente en uno nuevo y se observó el comportamiento, así como los movimientos de las lombrices ante estímulos de tacto para verificar si estas estaban con vida.

Las lombrices fueron nuevamente depositadas en los contenedores originales para continuar con la prueba durante los restantes 7 días. La humedad es medida y ajustada al 45 %. Las lombrices no serán alimentadas durante los 14 días que dura la prueba.

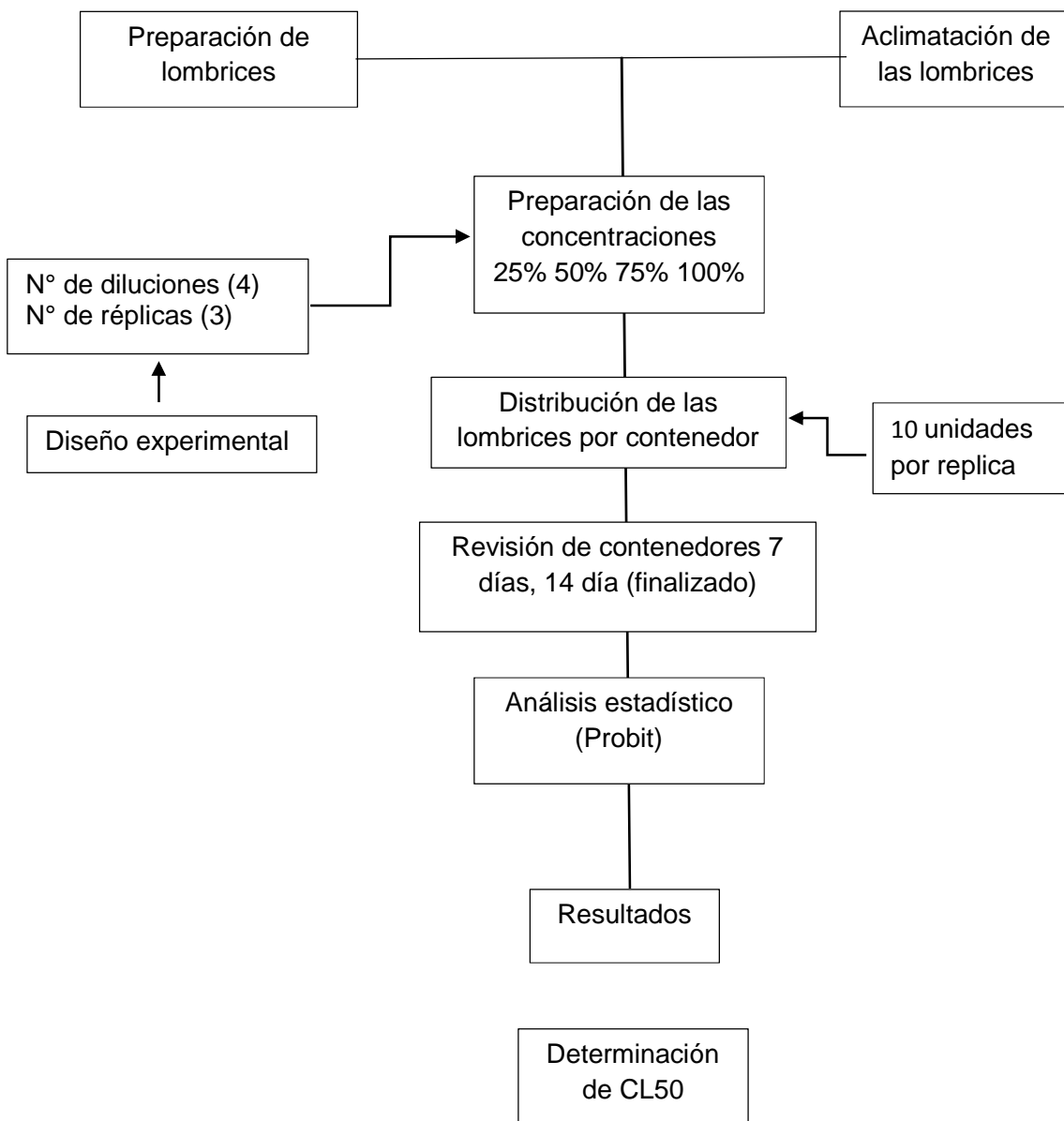
Para determinar la mortalidad se contaron los organismos vivos, el movimiento y las reacciones ante los estímulos de tacto. Las lombrices que no responden a esos estímulos se les considero muertas. Estas fueron pesadas para registrar su ganancia de peso al término de la prueba. Finalmente, se mide la humedad y el pH de cada unidad experimental.

2.4.2. Materiales y equipos

Para llevar a cabo el bioensayo se contó con los siguientes materiales y equipos:

- 15 Contenedores de vidrio (diámetro 4,5 cm 7 h)
- Balanza
- tela sintética (organza)
- 20 cajas Petri
- Espátula
- papel filtro
- agua destilada
- ligas de caucho
- rótulos

2.4.3. Diagrama de flujo del bioensayo con las lombrices de tierra (*Eisenia foétida*)



Fuente: Autores: Jalicsa González , Giovanni Delgado .

III. RESULTADOS

3.1. Parámetros físico Químicos y microbiológico

Los parámetros evaluados fueron los siguiente: Salinidad, Conductividad, PH, Materia orgánica total, Oxígeno disuelto, Nitritos, Nitratos, Amonio, Fosfatos, Coliformes fecales, Mercurio, Plomo; donde se detalla a continuación cada uno de sus valores tanto en agua como en sedimentos (ver anexo 4).

3.1.1. Resultados de agua

Con los resultados obtenidos de las pruebas físico-químicas realizados en los laboratorios LASA Control ambiental.

Tabla 1: Caracterización de la muestras del efluente que atraviesa la Uleam.

REPORTE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO						
ÍTE M	PARÁMETROS	UNIDADE S	MUESTR A	TULSM A	INCERTIDUMB RE U (K=2)	MÉTODO ENSAYO
1	AMONIO	mg/l	241,09	0.05	N.A.	Método Interno
2	FOSFATOS	mg/l	10,19	0,2 -6	N.A	PEE.1.ASA-FQ-09b APHA 4500 P E •
3	MATERIA ORGÁNICA	mg/l	1024,00	150	N.A	Gravimetría
4	MERCURIO	mg/l	0,0006	0,01	±0,00009	PEE.LASA-FQ-20d APHA3111 B
5	N-NITRITOS	mg/l	<0,02	1,0	N.A	PEE-I.ASA-FQ-54 APIIA 4500 B
6	N-NITRATOS	mg/l	13,50	10.0	N.A	PEE-LASA.FQ.23 APIIA '1500 NO, B *
7	OXÍGENO DISUELTO	mg/l	0,04	8,32	N.A	APIIA 4500 OC *

8	PLOMO	mg/l	<0,40	0,5	N.A	PEE.LASA.FQ.2 0b APHA3111 B
9	COLIFORMES FECALES	NMP/100 ml	22 x 10 ³	=/<3000	NO APLICA	PEE/LASA/MB/27 APHA 9221 E
10	SALINIDAD	g/L	13	=/<0,5 Ups		
11	CONDUCTIVIDA D	MS	954	1000		
12	Ph	-	8	5-9		

3.1.2. Resultado de sedimento.

Tabla 2: Caracterización de la muestra de sedimento del efluente que atraviesa la Uleam.

REPORTE DE ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO						
ITEM	PARÁMETROS	UNIDADES	MUESTRA	TULSM A	INCERTIDUMBRE	MÉTODO DE ENSAYO
1	AMONIO DISUELTO	mg/kg	131,68	-	NA.	Método Interno
2	FOSFATOS DISUELTOS	mg/kg	17,110	-	NA.	Espectrofotometría a UV-Vis •
3	MATERIA ORGÁNICA	%	17,24	-	NA.	Gravimetría •
4	MERCURIO	mg/kg	0,05	0,8	NA.	Absorción Atómica
5	N-NITRITOS	mg/kg	1,70	-	NA.	Espectrorotometri a UV-Vis*
6	N-NITRATOS	mg/kg	1 1,96	-	NA.	Espectrofotometría a UV-Vis*
7	PLOMO	mg/kg	<10	25	NA.	PEE.LASAFQ-5 EPA 7000 B
8	pH		8	6-8		
9	COLIFORMES FECALES	NMP/g	<3c		NO APLICA	PEE/LASA/MB/09 b

3.2. Determinación de la toxicidad

A partir de los resultados derivados de las pruebas de toxicidad mediante los bioensayos (*D. magna* y *E. foétida*), realizadas en el Laboratorio de Aguas de la F. Ciencias Agropecuarias de la ULEAM, se procedió al cálculo de la CL50 donde obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 3: Datos de la CL50 con el programa Pri-Probit .

D. Magna(CL50-48 horas)	E. Foétida (CL50- 14 días)
0,00267%	0,00165%

3.3. INDICADORES DE TOXICIDAD

Para los indicadores de toxicidad, una vez que se obtuvieron los datos. Se realizó un ANOVA simple con un test de múltiples comparaciones de Tukey kramer.

3.3.1. D. MAGNA (PULGA DE AGUA)

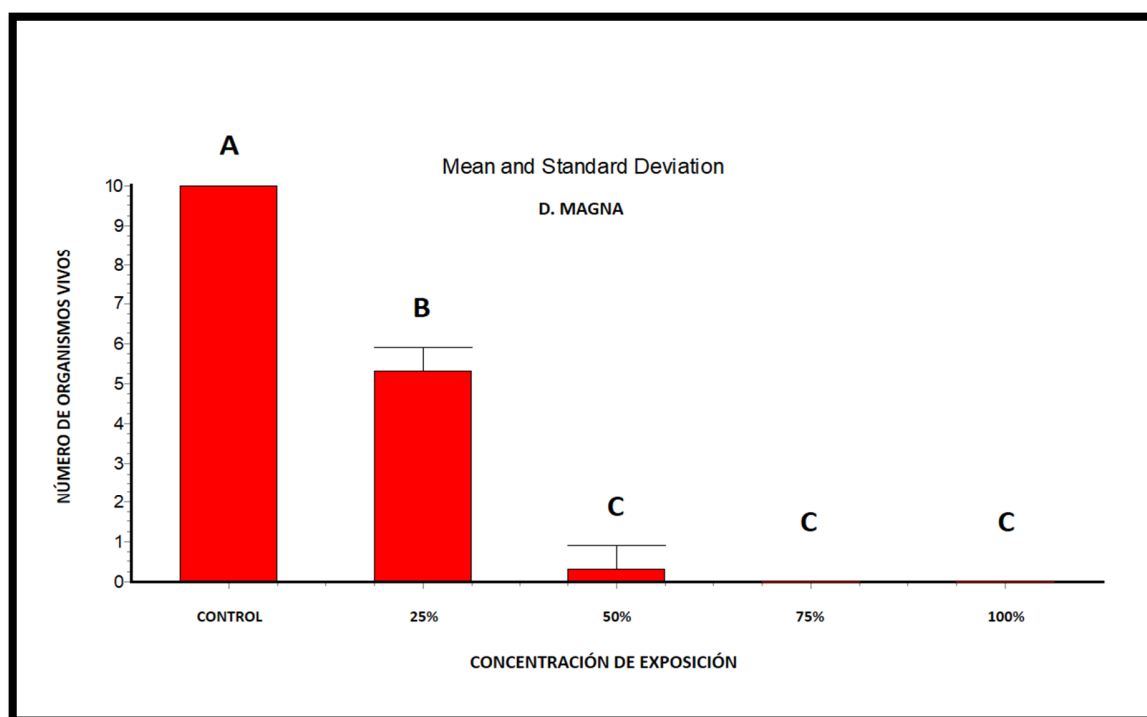


Grafico 1:D. Magna. Número de organismos vivos posterior a la exposición en función de las 4 concentraciones del agua residual del efluente que atraviesa la ULEAM. Letras distintas indican diferencias extremadamente significativas ($p < 0.001$) con respecto al control y el 25%

3.3.2. E. FOÉTIDA (LOMBRIZ DE TIERRA)

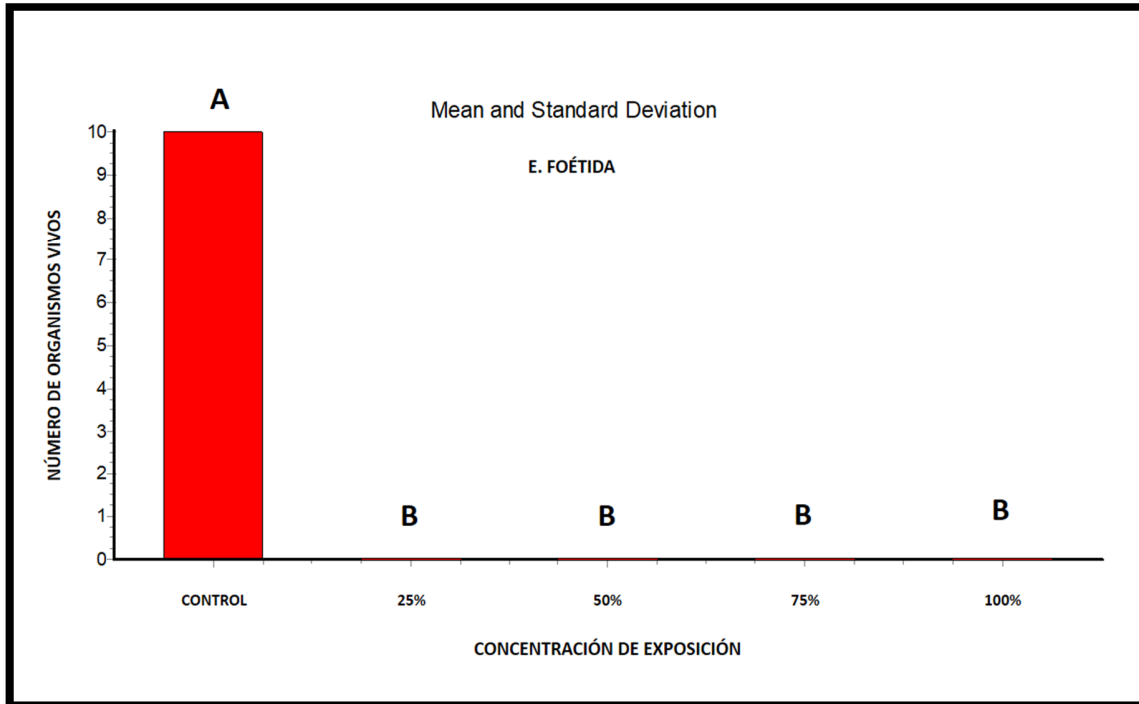


Grafico 2: Número de organismos vivos posterior a la exposición en función de las 4 concentraciones de sedimento del efluente que atraviesa la ULEAM. Letras distintas representan diferencias extremadamente significativas con respecto al control.

3.3.3. ÍNDICE DE CONDICIÓN *E. FOÉTIDA*

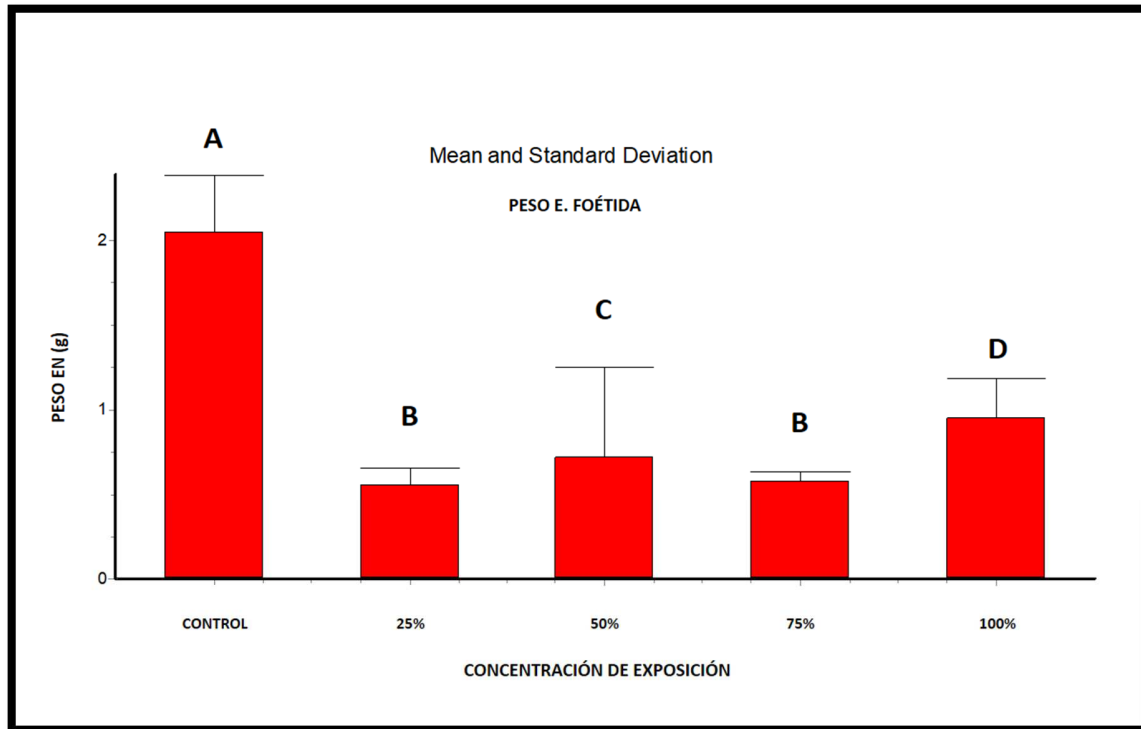


Grafico 3: Peso de organismos vivos posterior a la exposición en función de las 4 concentraciones de sedimento del efluente que atraviesa la ULEAM. Letras distintas representan diferencias extremadamente significativas ($p < 0.001$ al 25% y $p < 0.01$).

3.4. Verificación de la hipótesis

Tras haber realizado los bioensayos, procesamiento de datos y análisis de resultados, se determina que la *Daphnia magna* y la *Eisenia foétida*, son organismos altamente efectivos en la detección de contaminación, por la tanto se acepta la hipótesis de investigación afirmando que pueden ser utilizados como bioindicadores para evaluar la potencial toxicidad del efluente de la Uleam.

IV. DISCUSIÓN

Vamos a centrar la discusión en aquellos aspectos más relevantes que se han extraído de los resultados obtenidos, dado a que no disponemos de elementos específicos de comparación con los que contrastar nuestros resultados ya que no han existido estudios en esta área.

La caracterización del agua y el sedimento del efluente que atraviesa la Uleam demostró el alto potencial toxico del mismo. En el caso de la muestra de agua presento por encima del límite permisible parámetros como: Fosfato (10,19mg/l), Materia orgánica (1024mg/l), Nitratos (13,50 mg/l) en el caso del sedimento los parámetros que se lograron comparar están dentro de los rangos.

Estas comparaciones realizadas según las tablas del TULSMA DEL LIBRO VI: Norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados - Anexo2, tabla 2 (**ver anexo 7**) y la norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes : recurso agua Anexo 1 ; tabla 11 (**ver anexo 6**) es decir el proveedor del servicio de tratamiento de la ciudad podrá solicitar a la entidad ambiental de control, la autorización necesaria para que los regulados, de manera parcial o total descarguen al sistema de alcantarillado efluentes, cuya calidad se encuentre por encima de los estándares para descarga a un sistema de alcantarillado, establecidos en la presente norma(TULSMA, 2015).

La baja concentración de la CL50, (0,0026.7%); en el ensayo con *D. magna* demostró alta toxicidad de este efluente en el compartimento agua. Esto explica la mortalidad de los organismos cuanto fueron expuestos a las concentraciones de (50%,75% y 100%).

Según Guerrero,2017 el análisis para determinar los niveles normales en los parámetros también ayudó para corroborar que la mortandad de los organismos se debió a los compuestos tóxicos que se encontraban en el agua, por tanto, los resultados obtenidos por las pruebas de toxicidad sugieren que la muerte de los organismos en los bioensayos de toxicidad de cl50 son causa de los componentes tóxicos del agua.

por otra parte, en el ensayo de toxicidad con las lombrices de tierra, el valor bajo de la CL50 (0,0065%) también se demuestra la alta toxicidad del sedimento en contacto con el efluente que atraviesa la Uleam. Esto explica el alto porcentaje de mortalidad (100%) en los organismos expuestos en todos los tratamientos de exposición se los comparo con el 100% de supervivencia evidenciado en el control.

Según Vázquez cita a Roberts y Dorough (2018), conforme pasa el tiempo de exposición, aumentan los efectos de manera significativa, de tal manera que éstos comienzan con enrollamiento y liberación del fluido celómico, siguiendo con rigidez y contractura, que aumentan conforme pasan las horas de exposición, seguido de encogimiento por segmentos, que van de 1 a 5 segmentos a lo largo del cuerpo de la lombriz, finalizando con ablandamiento, poco tono muscular y muerte.

Es por ello que se considera que; el potencial de los organismos como bioindicadores en ensayos de toxicidad está ampliamente demostrado, la principal ventaja de emplearlos en investigación ecotoxicológica es la de mostrar los efectos del tóxico a nivel individual y sus consecuencias posteriores para niveles superiores de organización biológica, población y comunidad (Alayo & Lannacone, 2002)

Las especies de *Eisenia Foétida* y *D. Magna* han demostrado ser muy útil y sensible en la evaluación de sedimento y agua problema, dando respuestas significativas a cada uno de los ensayos.

V. CONCLUSIONES

La caracterización de las muestras de agua y sedimento del efluente que atraviesa la Uleam demostró la alta toxicidad del mismo en estos compartimentos ambientales. presento parámetros por encima del límite permisible como: Fosfato (10,19mg/l), Materia orgánica (1024mg/l), Nitratos (13,50 mg/l) en el caso del sedimento los pocos parámetros que se lograron comparar están dentro de los rangos

El ensayo de exposición forzada con la especie *D. magna* demostró la alta toxicidad de este efluente quedando comprobada la utilidad de esta especie para determinar la potencial toxicidad que pueda estar presente en ecosistemas acuáticos.

El ensayo de exposición forzada con la especie *E. foétida* evidencio la alta toxicidad del sedimento que está en contacto con el efluente que atraviesa la Uleam, esto demuestra la utilidad de este organismo para ser utilizado como bioindicador de la toxicidad en este compartimento ambiental.

Las bajas concentraciones obtenidas en el cálculo de la CL50 demuestran la alta toxicidad que presenta el efluente que atraviesa la Uleam afectando tanto al agua como al sedimento

La utilización de organismos como *D. magna* y *E. foétida* como bioindicadores son una herramienta útil y de bajo coste para conocer la potencial toxicidad que puede estar afectando los ecosistemas

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar seguimiento en la aparición de neonatos, se recomienda separarlos de la población, colocándolos en nuevos recipientes con medio de cultivo fresco para evitar muertes prematuras por el exceso de población.
2. Realizar estudios con diferentes especies manteniendo los mismos parámetros y condiciones; para saber qué tan agresivo puede llegar a ser la toxicidad del efluente que atraviesa la Uleam.
3. El control sirve como referente para determinar la sensibilidad de los organismos de prueba, el cual es necesario para los ensayos de exposición, tanto en agua como en sedimento.
4. Se recomienda a la universidad proporcionar laboratorios y espacios adecuados para realizar esta clase de estudios; con equipos y productos químicos que permitan medir con exactitud los parámetros físico-químicos y microbiológicos que se evalúan en estos estudios.
5. Generar medidas ambientales dirigidas a mitigar el efecto de esta fuente de contaminación ya que es evidente la toxicidad del efluente que atraviesa la universidad.
6. Se debe considerar la erradicación de las aguas ilícitas que alimentan la quebrada, planteando un sistema simplificado que sea cuantificable para dar posible solución a este problema, es decir realizar las conexiones necesarias al alcantarillado.

BIBLIOGRAFÍA

- Alayo M. & Iannacone J. /2002. / Ensayos ecotoxicológicos con petróleo crudo, diésel 2 y Diésel 6 con dos subespecies de *Brachionus plicatilis*/ Müller 1786 Rotifera: Monogononta. / Gayana. / 66: 45-58p.
- Capó Martí Miguel / 2007 / principios de ecotoxicología /editorial Tébar/ 320p.
- Castillo Morales G. / 2004 / Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. / /editor: IDRC,2004/ México /189p.
- Moreno M. / 2003. / Toxicología ambiental evaluación de riesgo para la salud humana. /Madrid- España. / MCGRAW-HILL:interamericana de España / 384 p.
- Cervantes F, /2012, / Remoción de materia orgánica y toxicidad de aguas residuales de la industria cosmético - farmacéutica con un vermifiltro, (en línea).consultado: 11 noviembre 2018/ disponible <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/5065/Tesis.pdf?sequence=1>
- Cuevas Díaz M; Espinoza Reyes G; Ilizaliturri Hernández C; Mendoza Cantú A./2012 / Métodos ecotoxicológicos para la evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos/instituto nacional de ecología, 2012/ Coyoacán- México /135p
- Fernández Cirelli, Alicia / 2012/ El agua: un recurso esencial / Química viva, vol11, Buenos Aires- Argentina / pp 147- 170/ (en línea).consultado: 26 enero 2019/ Disponible: <https://www.redalyc.org/pdf/863/86325090002.pdf>
- Guerrero G, 2017 /Monitoreo de una planta tratadora de aguas residuales mediante pruebas de toxicidad aguda con el cladóceros *Daphnia magna* y el rotífero de agua dulce *Lecane quadridentata*/ México /hidrobiológica, 27 (1): 87-92 (en línea).consultado: 27 enero 2019/ disponible: <http://www.scielo.org.mx/pdf/hbio/v27n1/0188-8897-hbio-27-01-00087.pdf>

- Ramírez Romero P; Mendoza Cantú A, /2008/ Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: la experiencia México /editor: instituto nacional de ecología,2008/ México/ 414p.
- TULSMA, 2015 libro VI anexo 1 norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: recurso agua./ pp 286 -339/ (en línea).consultado: 29 enero 2019/ disponible <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu112180.pdf>
- Vázquez;/2018/ determinación de cl50 y ce50 de endosulfán lactona y diazinón en lombriz de tierra (Eisenia foétida) / Agroproductividad: vol. 11, núm. 4, abril. 2018. pp:105-111./(en línea) consultado: 26 enero 2019/ disponible: <file:///c:/users/usuario/downloads/277-texto%20del%20art%c3%adculo-463-1-10-20180601.pdf>

ANEXOS

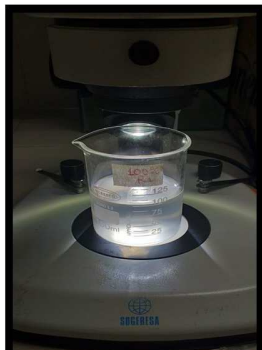
ANEXO 1: Fotos de bioensayo de toxicidad con *D. magna* (pulga de agua)



Recolección de muestras de agua



Aclimatación de organismos



Conteo de organismos para prueba



Ensayo completo con sus diluciones:
0%. 25%. 50%. 75% 100%.

ANEXO 2: Fotos de bioensayo de toxicidad con *E. foétida* (lombriz de tierra).



Recolección de muestra



Selección de organismos



Lavado de lombrices



Depuración de lombrices (5h)



Diluciones de sedimento

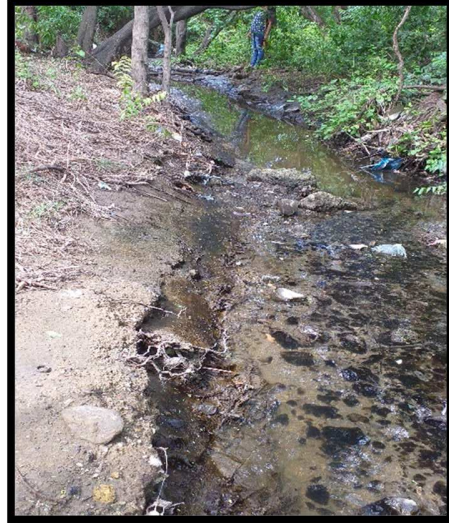


Ensayo completo, con sus respectivos organismos y diluciones

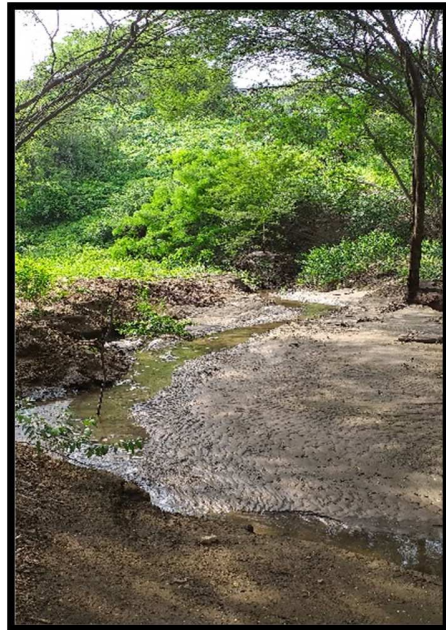
ANEXO 3: Ubicación de área de estudio.



Tubería de aguas lluvias que da origen al efluente.



Parte de la longitud del efluente.



ANEXO 4: Resultados de caracterización de agua y sedimento.



LASA
LABORATORIO ANALITICO AMBIENTAL
AGUA - EFLUENTES INDUSTRIALES

LABORATORIO DE
ENSAYO ACREDITADO
POR EL SAE CDM
ACREDITACIÓN
N° OAE LE 10 00 002

INFORME DE RESULTADOS

INF.LASA 15-02-19-00428
ORDEN DE TRABAJO No. 00480-19

DATOS DEL CLIENTE			
SOLICITADO POR: GONZALEZ CIERE JALICSA BERENISE		DIRECCIÓN: BARRIO ABDÓN CALDERÓN CALLE 12 AVENIDA 40	
TELÉFONO/FAX: 0522451084	TIPO DE MUESTRA: AGUA	PROCEDENCIA: ULEAM - MANTA	
IDENTIFICACIÓN: AGUA RESIDUAL DESCARGA EFLUENTE		CÓDIGO INICIAL: M1	

DATOS DEL LABORATORIO			
MUESTREO POR: SOLICITANTE	FECHA DE MUESTREO: -	INGRESO AL LABORATORIO: 06/02/2019	
FECHA DE ANÁLISIS: 06/02-15/02/2019	FECHA DE ENTREGA: 15/02/2019	NÚMERO DE MUESTRAS: Una (1)	
CÓDIGO DE MUESTRA: 1587-19		REALIZACIÓN DE ENSAYOS: LABORATORIO	

REPORTE DE ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO

ITEM	PARÁMETROS	UNIDADES	MUESTRA	INCERTIDUMBRE U (n=2)	MÉTODO DE ENSAYO
1	AMONIO	mg/l	241,09	N.A.	Método Interno *
2	FOSFATOS	mg/l	10,19	N.A.	PEE-LASA-FQ-09b APHA 4500 P E *
3	MATERIA ORGÁNICA	mg/l	1024,00	N.A.	Colorimetría *
4	MERCURIO	mg/l	0,0006	± 0,00009	PEE-LASA-FQ-20d APHA 3112 B
5	N-NITRITOS	mg/l	<0,02	N.A.	PEE-LASA-FQ-54 APHA 4500 NO ₂ B
6	N-NITRATOS	mg/l	13,50	N.A.	PEE-LASA-FQ-33 APHA 4500 NO ₃ B *
7	OXÍGENO DISUELTOS	mg/l	0,01	N.A.	APHA 4500 O C *
8	PLOMO	mg/l	<0,40	N.A.	PEE-LASA-FQ-20b APHA 3111 B

LOS ENSAYOS MARCADOS CON * ESTÁN FUERA DEL ALCANCE DE ACREDITACIÓN DEL SAE
N.A.: No Aplica



DR. MARCO VILLARRO
GERENTE DE LABORATORIO

Prohibida la reproducción parcial por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.
LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida o tomada por el laboratorio.
Cuando se usen criterios de conformidad y aplican, se tendrá en cuenta el valor de la incertidumbre asociada al resultado y declarado por el método específico.

INFORMES DE RESULTADOS

W.F. LASA: 14/02/2019 951
ORDEN DE TRABAJO N° 19-408

DATOS DEL CLIENTE	
SOLICITADO POR: GONZÁLEZ CHIRE JALISCA RESERVOE	DIRECCIÓN: BARRIO ARDÓN CALDERÓN CALLE 12 AVENIDA 48
TELÉFONO: 0522451064	
TIPO DE MUESTRA: AGUA	PROCEDENCIA: ULSAP - MANA
IDENTIFICACIÓN: AGUA RESERVOAL DESCARGA EFLUENTE	

DATOS DEL LABORATORIO	
FECHA DE MUESTREO: 23/01/2019	NÚMERO DE MUESTRAS: UPA (1)
FECHA DE INGRESO AL LABORATORIO: 05/02/2019	REALIZACIÓN DEL ENSAYO: LABORATORIO
FECHA DE ANÁLISIS: 06 AL 11/02/2019	MUESTREO POR: SOLICITANTE
FECHA DE ENTREGA DE INFORME: 14/02/2019	CÓDIGO DE MUESTRA: 19-1907

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

PARÁMETRO	UNIDADES	RESULTADO	INCERTIDUMBRE U (K=2)	MÉTODO DE ENSAYO
COLIFORMES FECALES	NMP/100ml	22 X 10 ³	NO APLICA	FEZ/LASA/MB/27 MNA 9221 E

NOTA: LAS UNIDADES E INFORMES EN CASO QUE SE PRECISE Acreditación, SE DAN POR EL ALICUADO DE Acreditación DEL IAF


Dr. Marco Guayano Ruales
GERENTE DE LABORATORIO

PRESENTE LA RESPONSABILIDAD POR LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR EL LABORATORIO.
LASA SE RESPONSABILIZA POR LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL LABORATORIO A LA PERSONA QUE LE ENTREGA LA MUESTRA.
EL LABORATORIO NO SE RESPONSABILIZA POR LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL LABORATORIO A LA PERSONA QUE LE ENTREGA LA MUESTRA.
POLÍTICA RELATIVA AL USO Y TENDENCIA EN EL LABORATORIO.
CÓDIGO DE ÉTICA DEL LABORATORIO Y ANEXO DE TRABAJO EN CUENTA DEL VIGILANTE DEL LABORATORIO Y ENTREGA POR EL MUESTREO POR EL IAF

Av. de la Prensa NS3-113 y Gonzalo Gallo • Teléfono: 2469-814 / 2269-312
Juan Ignacio Paez OBE-97 y Simón Cárdenas • Teléfono: 2290-815 • Celular: 099 9236 287
e-mail: info@laboratoriolasa.com • web: www.laboratoriolasa.com • Quito - Ecuador

ANEXO 5 Límites de descargas al sistema de alcantarillado público



PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

4.2.2.3 Toda descarga al sistema de alcantarillado deberá cumplir, al menos, con los valores establecidos a continuación (ver tabla 11):

TABLA 11. Límites de descarga al sistema de alcantarillado público

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y grasas	Sustancias solubles en hexano	mg/l	100
Alkil mercurio		mg/l	No detectable
Acidos o bases que puedan causar contaminación, sustancias explosivas o inflamables.		mg/l	Cero
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico total	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	5,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,02
Carbonatos	CO ₃	mg/l	0,1

Continuación...

TABLA 11. Límites de descarga al sistema de alcantarillado público

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Caudal máximo		l/s	1.5 veces el

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
			caudal promedio horario del sistema de alcantarillado.
Cianuro total	CN ⁻	mg/l	1,0
Cobalto total	Co	mg/l	0,5
Cobre	Cu	mg/l	1,0
Cloroformo	Extracto carbón cloroformo (ECC)	mg/l	0,1
Cloro Activo	Cl	mg/l	0,5
Cromo Hexavalente	Cr ⁺⁶	mg/l	0,5
Compuestos fenólicos	Expresado como fenol	mg/l	0,2
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O ₅ .	mg/l	250
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	500
Dicloroetileno	Dicloroetileno	mg/l	1,0
Fósforo Total	P	mg/l	15
Hierro total	Fe	mg/l	25,0
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/l	20
Manganeso total	Mn	mg/l	10,0
Materia flotante	Visible		Ausencia
Mercurio (total)	Hg	mg/l	0,01
Níquel	Ni	mg/l	2,0
Nitrógeno Total Kjeldahl	N	mg/l	40
Plata	Ag	mg/l	0,5
Plomo	Pb	mg/l	0,5
Potencial de hidrógeno	pH		5-9
Sólidos Sedimentables		ml/l	20
Sólidos Suspendidos Totales		mg/l	220
Sólidos totales		mg/l	1 600
Selenio	Se	mg/l	0,5



PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Sulfatos	SO ₄ ⁼	mg/l	400
Sulfuros	S	mg/l	1,0

Continua...

Continuación...

TABLA 11. Límites de descarga al sistema de alcantarillado público

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Temperatura	°C		< 40
Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg/l	2,0
Tricloroetileno	Tricloroetileno	mg/l	1,0
Tetracloruro de carbono	Tetracloruro de carbono	mg/l	1,0
Sulfuro de carbono	Sulfuro de carbono	mg/l	1,0
Compuestos organoclorados (totales)	Concentración de organoclorados totales.	mg/l	0,05
Organofosforados y carbamatos (totales)	Concentración de organofosforados y carbamatos totales.	mg/l	0,1
Vanadio	V	mg/l	5,0
Zinc	Zn	mg/l	10

ANEXO 6: Norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados.

PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

	(Concentración en Peso Seco)	Agrícola	Residencial	Comercial	Industrial
Parámetros Generales					
Conductividad	mmhos/cm.	2	2	4	4
pH		6 a 8	6 a 8	6 a 8	6 a 8
Parámetros Inorgánicos					
Arsénico (inorgánico)	mg/kg	12	15	15	15
Azufre (elemental)	mg/kg	500	-	-	-
Bario	mg/kg	750	500	2000	2000
Boro (soluble en agua caliente)	mg/kg	2	-	-	-
Cadmio	mg/kg	2	5	10	10
Cobalto	mg/kg	40	50	300	300
Cobre	mg/kg	63	63	91	91
Cromo Total	mg/kg	65	65	90	90
Cromo VI	mg/kg	0.4	0.4	1.4	1.4
Cianuro (libre)	mg/kg	0.9	0.9	8.0	8.0
Estaño	mg/kg	5	50	300	300
Flúor (total)	mg/kg	200	400	2000	2000
Mercurio (inorgánico)	mg/kg	0.8	2	10	10
Molibdeno	mg/kg	5	10	40	40
Níquel	mg/kg	50	100	100	100
Plata	mg/kg	20	20	40	40
Plomo	mg/kg	100	100	150	150
Selenio	mg/kg	2	3	10	10
Talio	mg/kg	1	1	1	1
Vanadio	mg/kg	130	130	130	130
Zinc	mg/kg	200	200	380	380
Parámetros orgánicos					
Aceites y Grasas	mg/kg	500	<2 500	<4 000	<4 000
Hidrocarburos Aromáticos Monocíclicos					
Benceno	mg/kg	0.05	0.5	5	5
Etilbenceno	mg/kg	0.1	1.2	20	20



PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

Sustancia	Unidades (Concentración en Peso Seco)	USO DEL SUELO			
		Agrícola	Residencial	Comercial	Industrial
Estireno	mg/kg	0.1	5	50	50
Tolueno	mg/kg	0.1	0.8	0.8	0.8
Xileno	mg/kg	0.1	1	17	20
Compuestos Fenólicos	mg/kg	-	-	-	-
Clorofenoles (cada uno)	mg/kg	0.05	0.5	5	5
Fenoles (total)	mg/kg	3.8	3.8	3.8	3.8
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	mg/kg	<2		<5	<1
Benzo(a)antraceno	mg/kg	0.1	1	1	1
Benzo(a)pirenos	mg/kg	0.1	0.7	0.7	0.7

Continúa...

...Continuación

Sustancia	Unidades (Concentración en Peso Seco)	USO DEL SUELO			
		Agrícola	Residencial	Comercial	Industrial
Naftaleno	mg/kg	0.1	0.6	22	22
Pirenos	mg/kg	0.1	10	10	10
Hidrocarburos Clorinados					
Bifenilospoliclorados (PCBs) total	mg/kg	0.5	1.3	33	33
Clorinados Alifáticos (cada uno)	mg/kg	0.1	5	50	50
Clorobencenos (cada uno)		0.05	2	10	10
Tetracloroetilenos	mg/kg	0.1	0.2	0.5	0.6
Tricloroetileno	mg/kg	0.1	3	30	30
Pesticidas					
Pesticidas	mg/kg	0.1	0.1	0.1	0.1



PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

Sustancia	Unidades (Concentración en Peso Seco)	USO DEL SUELO			
		Agrícola	Residencial	Comercial	Industrial
organoclorados y sus Metabolitos totales:					
Aldrin					
Dieldrin					
Clordano					
DDT(total) ¹					
Endosulfan					
(total) ²					
Endrin (total) ³	mg/kg	0.01	0.01	0.01	0.01
Heptacloro ⁴	mg/kg	0.01	0.01	0.01	0.01
Hexaclorociclohexa no (todos los isómeros) ⁵	mg/kg	0.01	0.01	0.01	0.01
Atrazina	mg/kg	0.005	0.005	0.005	0.005
Carbofuran	mg/kg	0.01	0.01	0.01	0.01
Orgánicos		-	-	-	-
Misceláneos					
Alifáticos	no mg/kg	0.3	-	-	-
Clorinados (cada uno)					

Notas: n.d. no disponible

*: Total: La concentración total es la suma de la concentración de los constituyentes