

**UNIVERSIDAD CENTRAL “MARTA ABREU” DE LAS VILLAS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA**



**Calidad de las aguas utilizadas para regadío en el “Valle del Yabú”  
Santa Clara. Cuba**

**TESIS DE DIPLOMA**

**Autor: Eduardo Gime de Oliveira**



**Santa Clara**

**2017**

**UNIVERSIDAD CENTRAL “MARTA ABREU” DE LAS VILLAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA**



## **TESIS DE DIPLOMA**

**Calidad de las aguas utilizadas para regadío en el “Valle del Yabú” Santa Clara**

**Autor: Eduardo Gime de Oliveira**

**Tutor: MSc. Maibia Tamayo Irzula**

**Unidad de Toxicología Experimental (UTEX) Universidad de Ciencias Médicas**

**[maibiati@infomed.sld.cu](mailto:maibiati@infomed.sld.cu)**

**Santa Clara**

**2017**



*Pensamiento*

*El principio de la sabiduría es el temor de Dios;*

*Los insensatos desprecian la sabiduría y la enseñanza.*

*Proverbios de Salomón 1:7*



*Dedicatoria*

*A mi Reina: Avion Baby, por ser esta compañera de milicia, mi ayuda idónea, mi soporte, por estar siempre a mi lado y por ser parte del propósito de Dios en mi vida.*

*A mis padres por instruirme en el camino correcto y permitieran que Dios cumpliera Su propósito en mi.*

*A mi tío: Anjo por impulsarme a coger la beca para Cuba.*

*A mis hermanos y sobrinos por ser parte de mi vida.*

*A la gran familia cubana que directa o indirectamente estuvieron a mi lado.*



# *Agradecimientos*

*Muchos son los pensamientos en el corazón del hombre, más el consejo de Dios es el que prevalece.*

*Desde mis 12 años de edad quise experimentar la sensación de vivir lejos de mis padres. Quise volar pero mis alas todavía no estaban suficientemente aptas y fortificadas para el gran desafío que me proponía, aproximadamente una década después estando yo en el segundo año de la carrera de informática, aparece la oportunidad de estudiar en tres países: Rusia, Brasil y Cuba. De los tres países hoy me gradúo en Cuba de Licenciado en Biología gracias al esfuerzo conjunto de muchas personas que Dios iba poniendo en mi camino, y que hoy quiero agradecer, porque contribuyeron en la formación de mi madurez y carácter.*

*Mis agradecimientos para las siguientes personalidades:*

*A DIOS SOBRE TODAS LAS COSAS y por haber puesto todas estas personas en mi camino.*

*A La gran familia Mi Viña por todo*

*A mi querida esposa por todo, que a pesar de vivir en Jamaica estuvo siempre a mi lado, apoyándome creyendo en mi todo el tiempo, estuvo siempre en el momento que la necesitaba, es decir siempre*

*A mi tutora Maibia, su esposo Tony por sus esfuerzos y dedicación, a su mamá por la ayuda, a sus dos queridos hijitos Marlon y Migue por prestarme a su mamá siempre que la necesitaba.*

*A mis profes de la carrera por hacer que me gustara la biología y por tener paciencia conmigo, la Profe Katia a su esposo profesor Orelvis, a los profes Alexej, Ana María, Alan, Elizabeth, Maroto, Jenifer, Dianeya, Mirian, Mayelin, Oreste, Fuenticieia y su hija Adita, Roberto, al profe y la profe de Biología de desarrollo, a los profes Noa, Idelfonso y su esposa Mariza, Edgardo y Enma, Faife, Alejandro y otros funcionarios del Jardín Botánico, a Erick Prendes García a su hermana a sus padres y la prima y a todos otros mis profes de la carrera*

*A mis profes de la Universidad de la Habana del departamento de Zoología que me daban fuerzas para seguir: El profesor Alejandro Barros, el profe Elier la profe Gunari y la profe Dania*

*A todos los trabajadores de la Unidad de Toxicología Experimental (UTEX)*

*Al profe Omar Hernández Trimiño, a las profes Maritza Moreno Mata, Nilda Rosa Martínez, al profe Felix del Laboratorio de Química*

*A la profesora María Boffil Cárdenas*

*A los profes de la preparatoria, profe Yasleidi, Filopon y su esposa, al profe Mario*

*A la gente de la filial de ciencias medicas de Cienfuegos.*

*A todos muchas gracias este documento no alcanza para la lista de personas que tengo que agradecer ni para expresar lo agradecido que estoy.*

*A todos que directa o indirectamente me ayudaron MUCHAS GRACIAS.*



# *Resumen*

## RESUMEN

La contaminación de las aguas se ha incrementado a lo largo de los años y ha sido causada fundamentalmente por el desarrollo industrial y crecimiento poblacional. Actualmente existe una creciente preocupación por los efectos que causa el uso de aguas residuales en el riego por lo que el objetivo de la investigación fue evaluar la calidad de las aguas utilizadas para regadío en el “Valle del Yabú”. Se determinaron, indicadores microbiológicos y químicos. Además, se evaluó la ecotoxicidad de las aguas utilizadas para regadío, empleando un bioensayo *in vitro* de toxicidad aguda, rápido, sencillo y económico, utilizando bulbos de *Allium cepa* L. En el período de estudio es de señalar que los valores obtenidos en cuanto a coliformes totales y termotolerantes son  $>0,16 \times 10^3$  NMP/100 mL, los que superan en gran medida los admitidos en las normas de referencia. Los contenidos de nitrito y amoníaco muestran valores superiores a las concentraciones establecidas en las NC vigentes. Por tanto, las aguas se evalúan de No Aptas para el riego agrícola de cultivos y vegetales que se consumen de forma directa sin cocción. En el ensayo de toxicidad aguda en *Allium cepa* L., las muestras de agua analizadas son fitotóxicas a concentraciones superiores al 25 % en el caso del Punto 1, mientras que las muestras correspondientes a los Puntos 2 y 3 manifiestan su fitotoxicidad a partir del 75 %. Con los resultados obtenidos se evidencia la necesidad de utilizar una batería más amplia que incluya otros biomodelos además de ensayos subcrónicos y crónicos.

**Palabras claves:** aguas residuales, *Allium cepa* L., bioensayos, calidad, coliformes.



*Abstract*

## ABSTRACT

Water pollution has increased over the years and has been caused primarily by industrial development and population growth. Currently there is a growing concern about the effects of using wastewater for irrigation, so the objective of the research was to evaluate the quality of the water used for irrigation in "Valle del Yabú". Microbiological and chemical indicators were determined. In addition, the ecotoxicity of irrigation water was evaluated using a rapid, simple and economical in vitro bioassay of acute toxicity by using *Allium cepa* L. bulbs. During the period the analysis was carried out, it is noted that the values were obtained in terms of total and thermotolerants coliforms are  $> 0.16 \times 10^3$  NMP / 100 mL, which far exceeds those allowed in the reference standards. The contents of nitrite and ammonia show values higher than the concentrations established in the current CS. Therefore, water is evaluated as not suitable for agricultural irrigation of crops and vegetables that are consumed directly without cooking. In the acute toxicity test in *Allium cepa* L., the water samples were analyzed, turned out to be phytotoxic at concentrations higher than 25% in the case of Point 1, while the samples corresponding to Points 2 and 3 show their phytotoxicity after 75 %. The results show the need to use a wider battery that includes other biomodels in addition to subchronic and chronic tests.

**Key words:** waste water, *Allium cepa* L., bioassays, quality, coliformes.



# *Índice*

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Contaminantes Emergentes.....	5
2.1.1 Clasificación de los contaminantes emergentes.....	7
2.2 Índices de calidad del agua.....	8
2.2.1 Factores que afectan la toxicidad de las sustancias.....	10
2.2.2 Contaminación de los ríos en Santa Clara. Situación actual.....	10
2.3 Aguas residuales empleadas para riego.....	11
2.4 Ecotoxicología.....	14
2.4.1 Conceptos generales para comprender los estudios de ecotoxicidad.....	14
2.4.2 Bioensayos ecotoxicológicos en estudios de riesgo ambiental.....	15
2.4.3 Biomodelo de estudio especie <i>Allium cepa</i> L.....	18
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
3.1 Determinación de indicadores de calidad microbiológica.....	22
3.1.1 Técnica del Número Más Probable.....	22
3.2 Determinación de parámetros químicos.....	24
3.2.1 Método colorimétrico para la determinación de amoníaco.....	24
3.2.2 Método espectrofotométrico para la determinación de nitrito.....	24
3.3 Evaluación ecotoxicológica del riesgo ambiental.....	25
3.3.1 Ensayo de toxicidad aguda en <i>Allium cepa</i> L.....	25
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>29</b>
4.1 Determinación de indicadores de calidad microbiológica.....	29
4.2 Determinación de parámetros químicos.....	30
4.3 Evaluación ecotoxicológica del riesgo ambiental.....	30
4.3.1 Ensayo de toxicidad aguda en <i>Allium cepa</i> L.....	30

<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>34</b>
5.1 Determinación de indicadores de calidad microbiológica.....	34
5.2 Determinación de parámetros químicos.....	35
5.3 Evaluación ecotoxicológica del riesgo ambiental.....	36
5.3.1 Ensayo de toxicidad aguda en <i>Allium cepa</i> L.....	37
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>40</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>42</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>45</b>



---

# *Introducción*



---

## 1. INTRODUCCIÓN

El creciente desarrollo industrial y urbano ha traído consigo la aparición de una cantidad apreciable de sustancias químicas tóxicas que afectan los ecosistemas en el mundo y con ellos la salud humana, tales sustancias provocan daños a veces irreversibles como la pérdida de biodiversidad. El deterioro ambiental se hace más preocupante en el agua, pues es un insumo básico para la subsistencia de todo organismo vivo y para las actividades productivas del hombre (Adriana *et al.*, 2012)

Dentro de los contaminantes ambientales más nocivos encontramos a los efluentes industriales, que constituyen las fuentes más comunes de efectos adversos, los cuales pueden ser clasificados ampliamente de acuerdo con sus propiedades químicas y físicas, por su comportamiento en las aguas receptoras y la forma en que estos afectan al medio acuático; estos se consideran como mezclas complejas que contienen sustancias orgánicas e inorgánicas disueltas incluyendo tóxicos, materiales biodegradables y persistentes, todos ellos con un efecto perjudicial para el ecosistema (Barceló y Alda, 2008) El principal efecto adverso de los contaminantes resulta en el desequilibrio de los ecosistemas, lo cual se manifiesta con la pérdida de estabilidad, productividad y el reciclaje de la materia en estos sistemas, lo que significa que los mismos ya no son sostenibles. Esto es la consecuencia de la acción selectiva de las sustancias tóxicas, que tienen repercusiones distintas en las especies, en diferente medida o a concentraciones diversas. Los efectos pueden ser letales para las especies. Sin embargo, es más común que los efectos sean subletales y que las especies sigan vivas, pero se modifique su desarrollo (Murray *et al.*, 2010 ).

Las sustancias potencialmente tóxicas pueden encontrarse en concentraciones tan bajas, que no son detectables con los métodos químicos convencionales. Esto ha generado la necesidad del desarrollo de investigaciones de corte experimental para lograr una protección adecuada de los ecosistemas y garantizar la continuidad de su existencia y evitar la pérdida de biodiversidad. Un instrumento alternativo y que complementa los tradicionales análisis químicos y microbiológicos para la determinación de toxicidad de muestras ambientales es la utilización de bioensayos, usados desde mediados del siglo XX para el control de la calidad de las aguas. Estos tipos de estudios son de gran importancia, pues constituyen un objetivo fundamental de las guías de la Organización Mundial de la Salud (OMS) por la protección a la salud pública con la prevención de la transmisión de enfermedades por el agua. Por medio de los bioensayos se establecen los criterios de calidad para la protección de la vida acuática, los que posteriormente, se usan para determinar los estándares de calidad ambiental para cada agente químico (Barceló y Alda, 2008)

En las últimas décadas los ensayos con plantas superiores se encuentran dentro de los más utilizados, como organismos de prueba, por ser organismos eucarióticos, y por lo tanto comparables a la mayoría de las especies de la flora y la fauna superiores. Dentro de los mismos el de mayor repercusión es el ensayo en *Allium cepa* L., bioensayo *in vitro* que constituye un procedimiento de investigación rápido, económico, simple y muestra resultados confiables, para la evaluación de productos químicos, aguas residuales, que pueden representar un peligro potencial para el medio ambiente (Sánchez *et al.*, 2015).

Teniendo en cuenta los efectos adversos que producen al medio las aguas residuales, internacionalmente se tomó la decisión de regular sus vertimientos mediante normas que establecen las concentraciones que pueden presentar los residuales para poder ser vertidos a cualquier ecosistema. Cuba no ha quedado atrás en este aspecto y ha creado sus propias normas, las cuales han sido adaptadas a partir de las internacionales, ajustándose a nuestras condiciones (NC 27:2012); (NC 1048:2014). Además estableció, que todas las entidades que vierten desechos a un cuerpo receptor, deben realizarles una caracterización completa de los mismos, que permita buscar alternativas para su uso o tratamiento antes de ser vertidos.

Las normativas creadas para la protección de estos desechos no se han concientizados con el mismo rigor en todos los sectores por ejemplo el sector industrial. Los líquidos y sólidos residuales generados en centros de salud así como otras fuentes, de las diferentes áreas urbanas, han sido motivo de preocupación internacional debido al peligro potencial de propagación de los riesgos ambientales derivados de la ausencia de tratamientos adecuados. Es por ello que estos problemas trascienden el campo técnico-sanitario e involucran aspectos sociales, económicos, políticos y ambientales. Si bien en estos últimos años se ha procurado subsanar tal deficiencia, aunque existen otras acciones respaldadas por las instituciones del estado y centros de salud que combinan la organización con la seguridad, es una realidad, que en muchos de ellos hay una escasa preocupación por estos problemas (Tekniker, 2010).

El desarrollo poblacional e industrial que tuvo lugar a partir de los años 60 en la ciudad de Santa Clara no fue compatible con el sistema de alcantarillado y la planta de tratamiento que existía, y dejaron de funcionar los mismos. Actualmente el 79 % de la población, incluyendo centros industriales y hospitalarios vierten directamente sus aguas residuales, sin tratamiento o con tratamiento deficiente, hacia el curso de los Ríos Bélico y Cubanicay que confluyen en el sistema Arroyo Grande al norte de la ciudad de Santa Clara (Anexo 1).

Debido a las posibilidades económicas del país no ha sido posible dar continuidad al completamiento del sistema de alcantarillado de la ciudad y la construcción de un sistema de tratamiento de residuales que posibilite reutilizar sus aguas en el riego sin que constituyan un riesgo sanitario.

Desde inicio de los años 80 se ha utilizado el agua embalsada en la micropresa Arroyo Grande I y en la presa Arroyo Grande II, en el riego de las áreas cultivadas en el “Valle del Yabú” perteneciente a la Empresa de Cultivos Varios Yabú, destinada en lo fundamental a la producción de viandas, hortalizas, granos y frutales, principal fuente de suministro de productos del agro para la ciudad de Santa Clara.

Es por esta razón que reviste especial importancia ambiental y para la salud pública el manejo y disposición final de residuos sólidos y líquidos provenientes de toda la ciudad donde el destino final de estos residuos va a parar a los ríos. En este sentido se debe tener en cuenta que este recurso natural juega un papel importante en el ecosistema por tener incluidas una gran diversidad de especies y por ser una fuente vital para el consumo humano. En Cuba se ha comenzado a evaluar en los últimos años el estado de contaminación de los mismos. Sin embargo, no todas las interrogantes sobre esta temática han sido cubiertas.

.Por tanto, teniendo en consideración que el uso de aguas residuales, con tratamiento o no, en el riego agrícola constituye un peligro potencial para la salud humana, en esta investigación el área de impacto escogida está localizada en el “Valle del Yabú”, donde se reutiliza el agua embalsada en el sistema Arroyo Grande I y II (Anexo 2).

A partir de la política nacional dirigida a la protección del medio ambiente, resulta estratégico y de prioridad adecuar estudios experimentales, que brinden la evidencia científica de la calidad del agua de la presa y de las que abastecen las máquinas de riego, de las que hasta ahora no se tiene ninguna referencia, a través de la realización de ensayos de toxicidad aguda, empleando como biomodelo bulbos de *Allium cepa* (cebolla). Para el establecimiento de medidas de protección contra el efecto nocivo de sustancias y otros contaminantes que pudieran estar incidiendo sobre estas áreas.

Tomando en consideración los antecedentes y la problemática planteada, en este trabajo se propone como hipótesis:

Las aguas residuales provenientes de la ciudad de Santa Clara contaminan las aguas utilizadas para el regadío en el “Valle del Yabú”.

A partir de la hipótesis presentada los objetivos del estudio son los siguientes:

### *Objetivo General*

Evaluar la calidad de las aguas utilizadas para riego en el "Valle del Yabú".

### *Objetivos Específicos*

1. Determinar indicadores de calidad microbiológica de las aguas utilizadas para riego de un área del "Valle del Yabú".
2. Determinar parámetros químicos de las aguas utilizadas para riego de un área del "Valle del Yabú".
3. Evaluar ecotoxicidad de las aguas utilizadas para riego sobre la inhibición del crecimiento radicular de *Allium cepa* L.



# *Revisión Bibliográfica*

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1- Contaminantes Emergentes

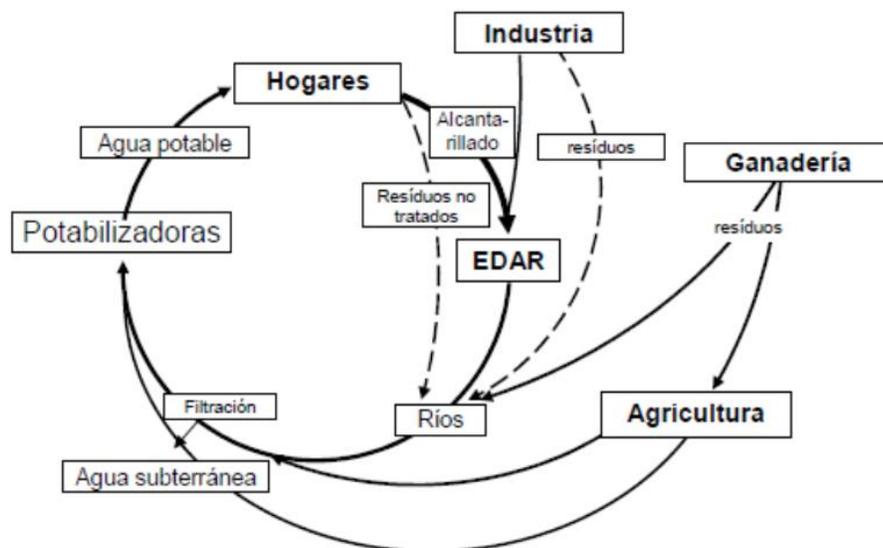
La comunidad científica, durante décadas, ha centrado sus esfuerzos en el estudio de los contaminantes químicos cuya presencia en el medio ambiente ha estado o está regulada en las distintas legislaciones, contaminantes en su mayoría apolares, tóxicos, persistentes y bioacumulables. Sin embargo, en los últimos años, el desarrollo de nuevos y más sensibles métodos de análisis ha permitido alertar de la presencia de otros nuevos contaminantes, potencialmente peligrosos, denominados globalmente como Contaminantes emergentes (Barceló y Alda, 2008).

Los contaminantes emergentes, cuyo estudio se encuentra entre las líneas de investigación prioritarias de los principales organismos dedicados a la protección de la salud pública y medioambiental, tales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia para la Protección del Medio Ambiente (EPA), o la Comisión Europea, son compuestos de distinto origen y naturaleza química, de los que se sabe relativamente poco o nada acerca de su presencia e impacto en los distintos compartimentos ambientales, consecuencia de que no hayan sido regulados, y de que la disponibilidad de métodos para su análisis sea nula o limitada y cuya presencia en el ambiente, o las posibles consecuencias en los comportamientos ambientales y en el hombre, han pasado en gran parte inadvertidas (Barceló y Alda, 2008).

La característica de estos grupos de contaminantes es que puede no estar constantemente en el ambiente para causar efectos negativos, ya que sus altas tasas de transformación/remoción se pueden compensar con la continua introducción de los mismos en el medio ambiente (Adriana *et al.*, 2012)

Estos no están incluidos en el monitoreo actual de programas de tratamiento de aguas; también incluyen la síntesis de nuevos compuestos químicos o cambios en el uso y disposición de los productos químicos ya existentes (Murray *et al.*, 2010 ) de los cuales existe una limitada información disponible sobre el efecto que pueden causar en la salud humana y en la ecología (Smital, 2008).

La aparición de elementos tóxicos y la variación en las concentraciones de los constituyentes comunes tiene su génesis en el denominado “ciclo del agua” (Figura 1). De acuerdo con este ciclo se ha establecido que estos compuestos entran en el ambiente a través de diversas fuentes y vías, tales como aguas residuales de tipo doméstico e industrial, de origen agrícola y ganadera, de los residuos de las plantas de tratamiento y de los efluentes hospitalarios (Macan, 2007)



**Figura. 1** Ciclo del agua

Fuente: Barceló y Alda (2008). Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC (Barcelona).

Los efectos que la contaminación química del agua produce son múltiples; entre los más importantes cabe destacar:

1. Acción tóxica y cancerígena
2. Incidencia sobre la producción de alimentos
3. Reducción de las posibilidades de su uso industrial y agropecuario
4. Limitación del uso del agua con fines recreativos.

Los riesgos que siguen a la contaminación del agua son difíciles de precisar ya que muchas veces las dosis tóxicas sobre las cuales se trabajan son muy pequeñas y el problema aún se torna más complejo por la presencia simultánea de diversos contaminantes (Barceló y Alda, 2008) Por lo que es necesario incorporar nuevos métodos de análisis para la detección y cuantificación, así como caracterizar todas las vías de entrada de estos contaminantes al medio ambiente y perfeccionar las posibles formas de remoción de los sistemas de aguas residuales, lo que facilitara un mayor conocimiento de este tema contribuyendo a la preservación de nuestro entorno (Robles y García, 2012).

### **2.1.2- Clasificación de los contaminantes emergentes**

De acuerdo con los reportes realizados en los últimos años (Barceló y Alda, 2008) los contaminantes emergentes comprenden una amplia gama de compuestos químicos, productos farmacéuticos y sus derivados, productos de cuidado personal, agentes tenso activos, plastificantes, aditivos y agentes industriales, plaguicidas que se clasifican en:

#### **Retardantes de llama bromados**

Los retardantes de llama bromados (BFRs), entre los que destacan el tetra bromo bisfenol A (TBBPA), el hexabromociclododecano (HBCD), y los polibromo-difeniléteres (PBDEs), se emplean en una gran variedad de productos comerciales, tales como muebles, plásticos, tejidos, pinturas, aparatos electrónicos, etc. La producción de retardantes de llama a nivel mundial es de 200.000 toneladas por año, de las cuales cerca de 47.000 corresponden a PBDEs. La preocupación por estos compuestos radica básicamente en su gran ubicuidad, ya que se han detectado en un amplio abanico de muestras, tanto humanas como animales y medioambientales, y en áreas, además alejadas de las zonas de mayor producción y uso. Esta circunstancia, su persistencia, biodisponibilidad, y algunos indicios sobre posibles efectos adversos, no completamente demostrados, como neurotoxicidad, disrupción endocrina y cáncer, han motivado la aplicación del principio de precaución y la consiguiente adopción de medidas legislativas para su control en agua a nivel europeo.

#### **Cloroalcanos**

Las parafinas cloradas son formulaciones industriales consistentes en mezclas técnicas de alcanos de cadena lineal poli clorados, con cadenas hidrocarbonadas (HC) que varían entre 10 y 30 Carbonos, y porcentajes de cloro comprendidos entre 30 y 70%. Las mezclas comerciales se dividen según la longitud de la cadena HC en parafinas cloradas de cadena corta, con 10 a 13 átomos de Carbono, de cadena media, con 14 a 17 átomos de Carbono, y de cadena larga, con 18 a 30 átomos de Carbono. La producción mundial de las aproximadamente 200 formulaciones comerciales que existen se estima en unas 300.000 toneladas por año, y de ellas las más utilizadas, y también las más tóxicas, han sido las de cadena corta.

Estas sustancias han sido calificadas como muy tóxicas para los organismos acuáticos, se ha observado bioacumulación en algunas especies, son persistentes, se han encontrado en materiales biológicos procedente del ártico, lo que indica que pueden ser transportadas a grandes distancias, y presentan una degradación lenta (tanto química como biológica). A la vista de los informes científicos sobre sus riesgos, estas sustancias se han incluido en la lista de sustancias prioritarias en el agua de la UE, y se han

puesto limitaciones a su comercialización y uso. En EE.UU, por el contrario, no se han fijado límites para estos compuestos, a pesar de que las parafinas con una media de 12 átomos de carbono en su cadena y un grado de cloración del 60% han sido catalogadas por la Agencia para la Investigación del Cáncer como posibles carcinógenos humanos (cáncer de hígado, renal, del tiroides, en ratas).

### **Pesticidas polares y metabolitos**

Los pesticidas, en especial los más apolares, debido a la regulación de que han sido objeto, se han estudiado durante décadas y en consecuencia se tiene un razonable conocimiento sobre su presencia y destino en el medio ambiente acuático. Sin embargo, en los últimos años, la preocupación en torno a estos compuestos se centra en sus productos de degradación, que han sido en su mayor parte ignorados hasta la fecha y que, sin embargo, se ha visto que pueden ser más ubicuos y tóxicos que los compuestos a partir de los cuales se generan. La mayoría de los productos de degradación de pesticidas son compuestos polares, muchos de ellos quirales, para cuya determinación la técnica más idónea es la de cromatografía de espectrometría de masas en tándem.

### **Fármacos y Drogas de abuso**

De todos los contaminantes emergentes, los que probablemente suscitan mayor preocupación y estudio en los últimos años son los fármacos y, en particular, los antibióticos. El consumo de fármacos en los países de la UE se cifra en toneladas por año, y muchos de los más usados, entre ellos los antibióticos, se emplean en cantidades similares a las de los pesticidas.

El consumo de drogas además de ser un problema social, también afecta el medio ambiente. Además del daño que genera a las personas que las consume puede generar efectos en las personas que utilizan aguas contaminadas con ellas o sus metabolitos.

## **2.2 Índices de calidad del agua**

La calidad del agua no es, un término absoluto, es algo que siempre se expresa en relación con su uso o la actividad a que está destinada, es identificada con su estado natural y la pérdida de calidad vendría medida por la distancia a este estado. La alteración de la calidad natural del agua puede impedir que sea adecuada para un uso determinado (UNESCO-WWAP, 2015).

Una de las temáticas de actualidad entre académicos y miembros de las comunidades a nivel local es la contaminación del agua superficial, en especial la contaminación de lagos, lagunas y reservorios, es un proceso incipiente debido a acciones antrópicas, entre las que destacan agricultura de exportación, ganadería y crecimiento desordenado de las áreas residenciales tanto a nivel urbano como rural. Los

índices de calidad son herramientas que permiten asignar un valor de calidad al medio a partir del análisis de diferentes parámetros. Su combinación da una visión más precisa del estado ecológico y el estado del medio biológico (Reolon, 2010).

La evaluación de la calidad del agua basada en el monitoreo espacial y temporal es fundamental para el estudio de la demanda y suministro de este recurso con múltiples fines, que a su vez, constituye un elemento primario de los planes de manejo sostenible a nivel de cuenca hidrográfica. La calidad del agua superficial regularmente es estudiada a través de la cuantificación de características físicas, químicas y biológicas. Sin embargo, existen agrupaciones de estas características denominados índices de calidad del agua, desarrollados bien con fines específicos de conformidad con los usos del agua, o como resultado de políticas de monitoreo y evaluación de la calidad del agua superficial a nivel de región o país (Nelson *et al.*, 2009).

En Cuba, investigadores han desarrollado un índice general para evaluar la calidad de agua para diferentes usos. Desde los años sesenta un grupo de especialistas del Instituto Nacional de Recursos Hidráulicos comenzaron a elaborar y aplicar diferentes índices de calidad de agua (superficial y subterránea) para el control, estudio y evaluación de los recursos hídricos del país (González y Gutiérrez 1974; Gutiérrez, García y Beato 1979 y 1981). Estos estaban orientados fundamentalmente a los problemas vinculados a la disposición de residuales orgánicos biodegradables y a los efectos de intrusión salina.

Actualmente, el índice de calidad del agua de la Fundación Nacional de Saneamiento de los Estados Unidos Americanos (ICA-NFS), es uno de los más ampliamente utilizados a nivel mundial, es un índice público ya que ignora tanto el tipo de uso que se le dará al agua, como el o los métodos utilizados para determinar una cualificación general del estado del agua y resulta un instrumento que permite identificar el deterioro o mejora de la calidad en un cuerpo de agua (Cordón *et al.*, 2016).

### **2.2.1 Factores que afectan la toxicidad de las sustancias**

Los factores que afectan la toxicidad de un producto pueden esquematizarse de la siguiente forma:(Maria y Abad, 2015).

- Factores que dependen del tóxico: Composición del agente químico, propiedades físico-químicas, dosis y concentración, rutas de administración, metabolismo del agente tóxico.
- Factores que dependen del individuo: Estado de salud, edad y madurez, estado nutricional y factores dietéticos, sexo, genética.

- Factores que dependen del medio: Temperatura, presión atmosférica, actividad lumínica, ocupación

A grandes rasgos:

- Los tóxicos no se comportan igual en todas las especies animales, (el caracol, conejo y cobayo toleran la belladona, o la *amanita faloides*; el cerdo soporta altas dosis de arsénico u organoclorados).
- Los tóxicos no se comportan igual en todas las razas, debido fundamentalmente a las variaciones genéticas en metabolismo y farmacodinamia.
- La absorción es diferente al adulto debido a:
  - El vaciado gástrico y tránsito intestinal irregular
  - No hay flora bacteriana.
  - El desarrollo incompleto de la función biliar
  - Los estrógenos y la progesterona son inductores y represores de diferentes rutas enzimáticas.

### **2.2.2 Contaminación de los ríos en Santa Clara. Situación actual**

El desarrollo hidráulico cubano ha permitido alcanzar un uso de alrededor de 1220 m<sup>3</sup> por habitantes en el año sin embargo, esto es insuficiente debido a una situación de estrés hídrico según las clasificaciones internacionales reconocidas. Según *World Resources International* (WRI), los recursos hídricos potenciales disponibles pueden variar en tiempo y espacio, desde 120 000 m<sup>3</sup>/persona/año en Canadá hasta menos de 100 m<sup>3</sup>/persona/año en Malta (Acosta, 2016)

En el deterioro de la calidad, carestía y falta de disponibilidad del recurso hídrico para todos sus beneficios influyen otros elementos naturales y antrópicos, tan diversos y complejos en su interrelación como la contaminación, los déficit de cobertura boscosa, la no siempre adecuada planificación, y ordenamiento de las aguas, la salinización, el empleo de tecnologías inadecuadas, el escaso reciclaje del agua; el mal estado de las redes hidráulicas de distribución; así como la insuficiente cultura de ahorro y manejo. Todo ello ha causado una crisis de este recurso en el planeta. La disponibilidad y el adecuado uso del agua en el país es un asunto de interés que abarca toda la economía, tiene una elevada incidencia en la protección nacional y de su ambiente, aunque esto se manifiesta de manera diferente y con distinto alcance según la región del país y la sociedad (Hernández *et al.*, 2016).

Los ríos Bélico y Cubanicay durante su curso atraviesan la ciudad de Santa Clara, provincia Villa Clara, hasta que confluyen formando el río Arroyo Grande al norte de la ciudad de Santa Clara (Anexo 1). Este

cauce vierte sus aguas en los embalses Arroyo Grande I y II. El primero de ellos sin uso debido a los altos niveles de contaminación de sus fuentes de abasto y el segundo utilizado en el riego de las áreas de Yabú.

Investigadores del Centro de Estudios y Servicios Ambientales de Villa Clara (CESAM) en el 2012, concluyeron que estos dos ríos conforman una de las micro cuencas de alimentación del río Sagua la Grande que es la mayor de la provincia Villa Clara, siendo esta una de interés provincial. En la misma, se desarrolla gran parte de la actividad agrícola y soporta los dos asentamientos poblacionales de mayor desarrollo industrial y urbano, lo que causa una mayor contaminación con albañales de la provincia. Este sistema natural, que conforman el Bélico y el Cubanicay, facilita el drenaje de la ciudad y como eje y pulmón verde podría favorecer la estética y el mejoramiento ambiental de la ciudad de Santa Clara. Actualmente los ríos están contaminados por la emisión de residuales líquidos y sólidos producto del mal estado de la red de acueductos y alcantarillados, así como la ausencia de una labor sistemática de saneamiento de los ríos, siendo una de las afectaciones principales la creación de micro vertederos de basura en diferentes puntos del río (Veliz *et al.*, 2012).

### **2.3 Aguas residuales empleadas para riego**

El agua es un recurso indispensable para las actividades humanas, para el desarrollo económico y el bienestar social. En promedio se necesitan 3.000 L de agua por persona para generar los productos necesarios para la alimentación diaria. Aunque la irrigación para fines agrícolas representa apenas 10% del agua usada, esta es la actividad de mayor consumo de agua dulce del planeta (Lorenzo *et al.*, 2009). El crecimiento acelerado de la población, especialmente en países en vía de desarrollo; la contaminación de los cuerpos de agua superficial y subterránea; la distribución desigual del recurso hídrico y los graves periodos secos; han forzado a buscar nuevas fuentes de abastecimiento de agua, considerándose las aguas residuales una fuente adicional para satisfacer la demanda del recurso.

Una de las practicas más comunes de disposición final de las aguas residuales domésticas ha sido la disposición directa sin tratamiento en los cuerpos de agua superficiales y en el suelo; sin embargo, la calidad de estas aguas puede generar dos tipos de problemas: de salud pública, particularmente importantes en países tropicales por la alta incidencia de enfermedades infecciosas, cuyos agentes patógenos se dispersan en el ambiente de manera eficiente a través de las excretas o las aguas residuales crudas y los problemas ambientales, por afectar la conservación o protección de los ecosistemas acuáticos y del suelo, lo que contribuye a la pérdida de valor económico del recurso y del

medio ambiente y genera a su vez una disminución del bienestar para la comunidad ubicada aguas abajo de las descargas (Calvo, 2016).

La utilización de aguas residuales en áreas agrícolas proviene de los tiempos antiguos en Atenas; sin embargo, la mayor proliferación de sistemas de aplicación de aguas residuales en el suelo ocurrió durante la segunda mitad del siglo XIX, principalmente en países como Alemania, Australia, Estados Unidos, Francia, India, Inglaterra, México y Polonia. En el periodo de la posguerra, la creciente necesidad de optimización de los recursos hídricos renovó el interés por esta práctica en países como África del Sur, Alemania, Arabia Saudita, Argentina, Australia, Chile, China, Estados Unidos, India, Israel, Kuwait, México, Perú, Sudan y Túnez (Parreiras, 2005 ).

En países del Sudeste asiático, de América Latina y de África, el riego con aguas residuales se hizo durante décadas de manera espontánea y no planificada por parte de los agricultores más pobres de las áreas urbanas y periurbanas (Alonso, 2017).

En Cuba después del triunfo revolucionario se comenzó la construcción de sistemas de riego para agricultura cañera y no cañera, en la década de los años 70 del pasado siglo, sobrevino la primera voluntad hidráulica del país con la construcción de numerosos embalses para asegurar el agua a los sistemas concebidos.

A partir de los años 90, producto de las afectaciones económicas provocadas por el fin de las relaciones comerciales preferenciales con los países socialistas, las áreas de riego en Cuba fueron disminuyendo progresivamente principalmente en técnicas de gravedad y aspersión por ser las menos eficientes. Actualmente el país se ha recuperado en gran parte de las afectaciones de la década de los noventa, pero a su vez atraviesa una de las sequías hidrológicas más serias que se tenga conocimiento. Se activan los sistemas de riego sobre todo un riego altamente eficiente para mantener la producción agrícola y el suministro de aguas a la población y a las industrias.

Por tanto el Instituto Nacional de Recursos Hidráulicos (INRH) de Cuba enfrenta retos para mejorar el aprovechamiento y la gestión de agua a nivel de complejos hidráulicos y cuencas hidrográficas. El INRH en el año 2001 dispuso que para las condiciones climáticas actuales existan tres vías factibles para llegar a un incremento de la eficiencia en el uso del agua en agricultura.

- Tratamiento y conducción de aguas residuales
- Uso de tecnologías adecuadas (riego superficial)

- Alternativas apropiadas.

Aunque se han establecido las pautas para regar en agricultura con aguas residuales, sólo se realiza en la provincia Villa Clara en dos zonas: Empresa de Cultivos Varios Manacas, donde los residuales de la cervecería “Antonio Díaz Santana” genera una carga de DBO de 1 450 Kg/d alimentando el embalse “La ceja”, de este se bombea parte del sistema de riego. En esta área no se han caracterizado las aguas ni se ha realizado investigaciones al respecto. El otro caso es el de la empresa de Cultivo Varios Valle de Yabú con los embalses Arroyo Grande I y II, que si se han investigado (José, 2006) y anualmente es caracterizado, periodo seco y húmedo, por inspectores de la Delegación Provincial de Recursos Hidráulico de Villa Clara. Actualmente en los nuevos hoteles construidos en polos turísticos las aguas servidas luego de un tratamiento terciario se reutilizan para el riego de áreas verdes en base a normas internacionales.

En Cuba no existe una normativa, para el reúso de aguas residuales para riego, sólo la NC 27:2012 Vertimiento de Aguas Residuales a las Aguas Terrestres y al Alcantarillado, que a los efectos de la norma los cuerpos receptores se clasifican cualitativamente según su uso de la forma siguiente:

**Clase (A):** Ríos, embalses y zonas hidrogeológicas que se utilizan para la captación de aguas destinadas al abasto público y uso industrial en la elaboración de alimentos. La clasificación comprende a los cuerpos de aguas situados en zonas priorizadas de conservación ecológica.

**Clase (B):** Ríos, embalses y zonas hidrogeológicas donde se captan aguas para el riego agrícola en especial donde existan cultivos que se consuman crudos, se desarrolla la acuicultura y se realizan actividades recreativas en contacto con el agua, así como cuerpos de agua que se explotan para el uso industrial en procesos que necesitan de requerimientos sobre la calidad del agua. La clasificación comprende los sitios donde existan requerimientos menos severos para la conservación ecológica que los comprendidos en la Clase (A).

**Clase (C):** Ríos, embalses, zonas hidrogeológicas de menor valor desde el punto de vista del uso como: aguas de navegación, riego con aguas residuales, industrias poco exigentes con respecto a la calidad de las aguas a utilizar, riego de cultivos tolerantes a la salinidad y al contenido excesivo de nutrientes y otros parámetros.

Esta clasificación especifica que para la descarga de las aguas residuales a los cuerpos receptores clasificados en la clase B (superficial), los coliformes termotolerantes no deben tener una concentración superior a los 1 000 NMP/100 mL, pero no hace referencia a los huevos de helmintos; en la clase C, donde se especifica el término de riego con aguas residuales, no se establece un valor a cumplir y se

refiere que el límite será fijado por el organismo rector de las aguas terrestres atendiendo al uso, necesidad de conservación y posible riesgo para la salud (Anexo 3 Tabla 1). Como referencia internacional la OMS (1989) establece directrices sobre calidad parasitológica y microbiológica de aguas residuales para uso en agricultura (Anexo 3 Tabla 2).

## **2.4 Ecotoxicología**

### **2.4.1 Conceptos generales para comprender los estudios de ecotoxicidad**

La toxicología ambiental o ecotoxicología, estudia las sustancias químicas que contaminan los alimentos, el agua, el suelo y la atmósfera. También aborda las sustancias tóxicas que ingresan a masas de agua como lagos, arroyos, ríos y océanos y además, estudia la forma en que las diferentes plantas, animales y seres humanos son afectados por la exposición a las sustancias tóxicas (Rodríguez, 2007).

La ecotoxicología es la rama de la toxicología encargada de solucionar los conflictos ambientales que surgen como contraposición entre quienes contaminan el ambiente y quienes sufren sus efectos o perciben los riesgos que ello significa en su calidad de vida, a través del estudio del destino y los efectos de los contaminantes en los ecosistemas, intentando explicar las causas y el cómo prever los riesgos probables; empleando para esto modelos biológicos como herramientas esenciales (Castillo, 2004).

La ecotoxicología en el mundo comenzó a desarrollarse, en la década de los 70 del pasado siglo, en función de evaluar la toxicidad de las sustancias y sus residuos, medicamentos, pesticidas, insecticidas, reactivos, entre otros, antes de su producción a gran escala y posterior uso (ecotoxicología prospectiva); convirtiéndose de inmediato en una herramienta útil para la confirmación de los daños que producen los compuestos químicos y biológicos sobre los ecosistemas (ecotoxicología retrospectiva) (Silbergeld, 2012).

De ahí que el término de Ecotoxicología tenga varias definiciones:

Es la ciencia que se ocupa del estudio del efecto y destino de los agentes tóxicos de origen antropogénico a los ecosistemas acuícolas y terrestres (Gaete *et al.*, 2003).

Es una rama de la ciencia que estudia y analiza los efectos de agentes químicos y físicos sobre organismos vivos, con particular atención a poblaciones y comunidades de ecosistemas definidos (Ronco *et al.*, 2004)

La ecotoxicología aplicada tiene como objetivo el desarrollo de protocolos de ensayo para ser utilizados como herramientas de predicción tempranas que permitan definir umbrales permisibles, con niveles de incertidumbre aceptables, y sirvan de guía a las entidades reguladores para la toma de decisiones. En el anexo 4 se muestra Glosario de Términos con conceptos generales para comprender los estudios de ecotoxicidad (Ronco *et al.*, 2004).

#### **2.4.2 Bioensayos ecotoxicológicos en estudios de riesgo ambiental**

La mayoría de los contaminantes tiene un efecto directo sobre diferentes procesos fisiológicos y biológicos de la biota, manifestándose algunos de sus efectos tóxicos, ejemplo, la reducción del crecimiento, inhibición de la fotosíntesis, variación en el contenido de pigmentos fotosintéticos celulares, inhibición de la actividad enzimática y degeneración de cloroplastos y mitocondrias, entre otros (Gómez y Ramírez, 2004).

Los bioensayos son herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología. Estas pruebas de toxicidad permiten realizar mediciones experimentales del efecto de agentes químicos o físicos en sistemas biológicos, estableciendo relaciones concentración-respuesta bajo condiciones controladas en terreno o en laboratorio. Los efectos a medir pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos. Los efectos pueden manifestarse a diferentes niveles, desde estructuras subcelulares o sistemas de enzimas, hasta organismos completos, poblaciones o comunidades. Por tanto, la toxicidad será la capacidad de una sustancia para ejercer un efecto nocivo sobre un organismos o la biocenosis y dependerá tanto de las propiedades químicas del compuesto como de su concentración, según sea la duración y frecuencia de la exposición al tóxico y su relación con el ciclo de vida del organismo; las pruebas podrán ser de tipo agudo o crónico (Ronco *et al.*, 2004).

Para la categorización de los niveles de toxicidad se utiliza la relación propuesta por (Zagatto y col. 1988) la misma se presenta en la tabla 3.

Tabla 3: Nivel de toxicidad basado en Unidades Tóxicas.

<b>Nivel de Toxicidad</b>	<b>Unidades Tóxicas</b>
No tóxico	1
Levemente tóxico	1 – 1,3
Moderadamente tóxico	1,3 - 2
Tóxico	2 - 4
Muy tóxico	> 4

Las evaluaciones de toxicidad de aguas superficiales, por lo general se realizan en sitios en los que se sospecha la existencia de contaminación. No es de esperar encontrar importantes efectos letales sobre los organismos, o sólo de manera transitoria, excepto en el caso de cuerpos de agua altamente contaminados (Ronco *et al.*, 2004). A pesar del limitado alcance de la información proveniente de los ensayos de toxicidad para su extrapolación a escala ambiental, los estudios con organismos en laboratorio, en condiciones controladas y estandarizadas para la evaluación de respuestas, han venido siendo las fuentes de información predominantes para la evaluación ecológica de los efectos de los contaminantes tóxicos (Castillo, 2004).

Los resultados de los bioensayos se refieren, en primer lugar, a los organismos usados en el ensayo y las condiciones estipuladas en el procedimiento de prueba. Un efecto nocivo evaluado por medio de ensayos biológicos normalizados puede indicar niveles de peligrosidad trasladable y asimilable a organismos que forman parte de los sistemas naturales y la biocenosis (Ronco *et al.*, 2004).

De manera general pueden ser definidos de acuerdo con:

- Su duración: corto, mediano o largo plazo.
- El método utilizado para incorporar la muestra al sistema de ensayo: estático, con renovación, de flujo continuo.
- El propósito para el cual son utilizados: control de calidad de vertidos, evaluación de compuestos específicos, toxicidad relativa, sensibilidad relativa entre otros.

En principio, se debe considerar que no existe ningún organismo ni biocenosis que pueda ser usado para evaluar todos los efectos posibles sobre el ecosistema bajo las diversas condiciones abióticas y bióticas presentes. En la práctica, solamente unas pocas especies (especies modelo), que representen

funciones ecológicas relevantes, pueden ser ensayadas. Además de estas limitaciones fundamentales y prácticas en la selección de organismos de ensayo, la muestra a ser ensayada puede también plantear problemas experimentales para la realización de la prueba. Los modelos ecotoxicológicos utilizan microorganismos, especies ícticas, crustáceos, entre otros en dependencia del compartimento ambiental en estudio, en el agua se usan los peces, las plantas en la atmosfera abejas y pájaros en tierra se usa la lombriz de tierra entre otros (Silbergeld, 2012).

Dentro de este contexto, se han identificado plantas terrestres como bioindicadoras de la presencia de tóxicos tanto en aguas como en suelos y se han constituido como centinelas de contaminantes en estos medios. La Guidelines for the Testing of Chemicals (OECD) establece las especies bioindicadoras para el desarrollo de pruebas de toxicidad en los diferentes protocolos de aplicación en ecotoxicología. Promovido por el Centro Internacional para el Desarrollo y la Investigación de Canadá, en el año 2000 se desarrolló el denominado proyecto *WaterTox*, prueba novel que comprendió a instituciones de diferentes países (Arkhipchuk *et al.*, 2000) con el objetivo de desarrollar y evaluar una batería de bioensayos simples, baratos y prácticos, con el fin de probar la toxicidad de muestras de agua para consumo humano (Forget *et al.*, 2000). Como parte de esa batería de bioensayos, fueron incorporadas las pruebas con *Lactuca sativa* L. y *Allium cepa* L., entre otras lo que resultó de gran utilidad como herramienta para su empleo en la evaluación toxicológica de muestras ambientales. Las mismas constituyen una eficiente herramienta de trabajo para medir alarma de peligro ambiental, además de poseer las siguientes ventajas: Son más sensibles a estrés ambiental que otros sistemas de ensayos disponibles, son de fácil manipulación y almacenaje, tienen bajo costo y buena correlación con otros sistemas de pruebas (Castillo, 2004).

### **2.4.3 Biomodelo de estudio especie *Allium cepa* L.**

*Allium cepa* L.(cebolla amarilla) es una de las plantas cultivadas de más amplia difusión en el mundo, siendo la segunda hortaliza en importancia económica después de la papa, con un valor social inestimable, consumida por casi todos los pueblos del planeta independiente del origen étnico y cultural; constituyéndose en un importante elemento de ocupación de mano de obra familia (Kassab, 1994).

### **Clasificación taxonómica**

La posición taxonómica del genero *Allium* y otros géneros relacionados es todavía en la actualidad un motivo de controversia. En las primeras clasificaciones de las angiospermas fueron adscritos a la familia *liliaceae*. Sin embargo durante los últimos 50 años, algunos botánicos británicos y americanos los

incluyeran en las *Amaryllidaceae* en base a su estructura floral. Posteriormente, taxonomistas como Cronquist (1968) y Takhtajan (1973) se han mostrado partidarios de una familia más amplia de las *Liliaceae*, que incluiría las *Amaryllidaceae*. En tratamientos taxonómicos más recientes, que tienden a pequeñas familias monofiléticas, el género *Allium* y sus géneros relacionados se reconocen como una familia distinta, *Alliaceae*, cercana a la *Amaryllidaceae*. Jones y Mann realizaron en 1963 una extensa revisión sobre la clasificación botánica de las aliáceas, posteriormente revisada y actualizada por Hanelt en 1990.

El género *Allium* ocupa el siguiente contexto taxonómico:

**Clase Monocotiledonia**

**Superorden Liliiflorae**

**Orden Asparagales**

**Familia Alliaceae**

**Tribu Alliae**

**Genero *Allium***

**Especie *cepa*. L**

### **Descripción botánica**

Los autores Sobrino y Sobrino (1959); Maroto (1989); y Rubatzky y Yamaguchi (1997) coincidieron en la descripción botánica de esta especie.

La misma se muestra a continuación:

- Es una planta herbácea bianual que completa su ciclo en dos años pero es cultivada como para la obtención de bulbos.
- El sistema radicular es de tipo fasciculado, capaz de llegar hasta 60 cm de profundidad, aunque normalmente no pasa de los 20 cm. Las raíces son tiernas, finas, poco divididas, bien provistas de pelos radicales en tercio medio inferior, de color blanco y con el olor típico a sulfuro de alilo que impregna toda la planta.
- El tallo está presentado por un disco subcónico, que representa la base del bulbo, con entrenudos muy cortos, en el cual se insertan el sistema radicular fasciculado por la parte inferior y las hojas carnosas que forman el bulbo por la parte superior.

La hoja consta de dos partes bien diferenciadas: parte basal o vaina envolvente y parte superior (peciolo ensanchado sin verdadero limbo) redondeada y hueca. Las hojas están dispuestas sobre el disco o tallo

en disposición opuesta. Cada nueva hoja sale a través de un orificio que se abre en el punto de unión de la vaina y limbo de la hoja anterior, de modo que cada vaina envuelve a todas las que nacen después. La vaina de las hojas exteriores se mantienen membranosas, escamosas y actuando como protectoras de color blanco, amarillo rojizo cobrizo o morado las más interiores se hacen carnosas de color blanco, amarillo o morado acumulando sustancias de reservas constituyendo la parte comestible del bulbo. La parte superior estrecha de las vainas, encima del bulbo, constituye el cuello o falso tallo. El escapo floral se desarrolla en segundo año del ciclo vegetativo de la planta después de un periodo de latencia del bulbo.

### **Clima y Suelos**

La temperatura óptima para el desarrollo del cultivo está alrededor de los 13°C y 14°C con máxima de 30°C y mínima de 7°C.

Se cultiva tanto en suelos arcillosos como en los francos con buenos resultados. El pH óptimo está entre 6 y 6,5 y no tolera suelos ácidos.

El ensayo con bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) es un bioensayo de toxicidad aguda semiestático de 72 horas de exposición, que es empleado como una de las alternativas para determinar los estándares de calidad del agua. Como punto final de evaluación de efectos fitotóxicos se cuantifica la inhibición promedio en la prolongación de las raíces del bulbo. El grado de toxicidad de las sustancias químicas de prueba es estimado por la medición de la longitud de cada uno de los bulbos de las raíces. El empleo de este ensayo muestra diversas ventajas buena correlación con otros sistemas de ensayo, involucrando la toxicidad general (crecimiento de las raíces) y la genotoxicidad (aberraciones cromosómicas), emplea poco equipamiento, sólo se necesita de un microscopio con una cámara, si se quiere realizar la prueba citológica con las puntas de las raíces (Castillo, 2004).



---

---

***Materiales y Métodos***

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### Área de estudio

El área de estudio está localizada en el “Valle del Yabú”, localidad próxima a la ciudad de Santa Clara, donde está asentada la Empresa de Cultivos Varios Yabú entidad que satisface la demanda de agua para el riego agrícola, reutilizando el agua embalsada en el sistema Arroyo Grande I y II, desde 1983 hasta la fecha. Dicha empresa tiene una superficie de 7 255,36 ha de tierra, de ellas cultivables 6 044,64 ha, teniendo bajo riego 886.13 ha.

La diversidad de la vegetación en el área de estudio, presa Arroyo Grande II, está compuesta mayormente por las especies: *Tipha domingensis* Pers., *Phyllanthus* (L) Greene., *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms., pertenecientes a las familias Typhaceae, Verbenaceae y Pontederiaceae respectivamente. Permanentemente se encuentra una fauna menor asociada al agua como: peces, anfibios e insectos acuáticos.

Se realizó el muestreo en tres sectores del Valle del Yabú: Muestra 1. Presa Arroyo Grande II, UEB Albarran; Muestra 2. Máquina de riego 1, Conyedo y Muestra 3. Máquina de riego 2, Conyedo (Anexo 2 A, B y C). Se seleccionaron estos puntos porque es donde confluyen los residuales proveniente de la ciudad de Santa Clara desde los ríos bélicos y cubanicay que a su vez reciben vertimientos de 28 puntos de contaminación (Anexo 2 D) lo cual los mas cercanos a los ríos bélico y cubanicay se pueden ver en (Anexo 2 E).

#### Toma de muestra

Para la presente investigación la toma de muestra se realizó en el mes de abril 2016, correspondiente al periodo seco. Se escogió esta época del año por ser la de mayor déficit hídrico y por tanto en la que el efecto del aporte de contaminantes provenientes de la ciudad de Santa Clara es mayor.

Las muestras de agua, en cada punto, se tomaron por triplicado, en el caso de las destinadas al ensayo de toxicidad aguda en *Allium cepa* L. y químico en frascos de vidrio de capacidad de 1000 ml debidamente esterilizados enjuagados con el agua de la misma fuente y tapados y, en el caso de las muestras destinadas a los análisis microbiológicos se utilizaron frascos con papel protector y bolsas de nailon estéril y se siguió el siguiente procedimiento:

Se quitó la tapa del frasco con papel protector se sumergió el frasco con rapidez en el agua a unos 20 cm de profundidad, con la boca dirigida a la corriente y cuidando que el frasco no tocara el fondo ni las paredes u orillas. Una vez extraído el frasco se trasladó el agua en la bolsa y se cerró inmediatamente cuidando de no dejar burbujas de agua en el cuello de la bolsa.

Seguidamente se procedió al rotulado de los mismos con los siguientes datos: código de muestra, lugar de muestreo y fecha de muestreo. Las muestras tomadas, de aguas superficiales, en los puntos establecidos se conservaron en un lugar fresco y posteriormente se trasladaron a los laboratorios correspondientes: Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) donde se realizó el análisis químico y microbiológico y en la Unidad de Toxicología Experimental (UTEX), situada en la Universidad de Ciencias Médicas, el ensayo de toxicidad aguda en *Allium cepa* L., ambas instituciones ubicadas en el municipio de Santa Clara.

### **3.1 Determinación de indicadores de calidad microbiológica**

#### **3.1.1 Técnica del Número Más Probable (NMP)**

Para el desarrollo de la técnica y procedimientos establecidos se utilizó la NC 1095:2015 Microbiología del Agua — Detección y Enumeración de Coliformes — Técnica del Número Más Probable (NMP). El número total de coliformes se expresó por los resultados de la prueba presuntiva y el número de coliformes termotolerantes por el resultado de la prueba confirmativa, en ambos casos los resultados fueron expresados en Número Más Probable de organismos presentes por cada 100 mL de muestra (NMP/100 mL). La determinación del NMP/100 mL se realizó por la serie de 5 tubos con diluciones múltiples (series de cinco porciones de 10,0 mL, cinco porciones de 1,0 mL y cinco porciones de 0,1 mL).

Los valores obtenidos se compararon con los descritos en las normas cubanas vigentes NC 827:2010 Agua Potable — Requisitos Sanitarios; NC 27:2012 Vertimiento de Aguas Residuales a las Aguas Terrestres y al Alcantarillado — Especificaciones; NC 1021:2014 Higiene Comunal — Fuentes de Abastecimiento de Agua — Calidad y Protección Sanitaria y NC 1048:2014 Calidad del Agua Para Preservar el Suelo — Especificaciones.

#### **El NMP constó de dos etapas:**

##### **Prueba presuntiva**

- Los tubos inoculados con la muestra que contenían caldo lactosado o caldo lauriltriptosa fueron examinados después de 24 y 48 horas de incubación a  $35 - 37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Se consideraron como positiva las que presentaron cualquier cantidad de gas en el tubo de Durham. Los cultivos que no mostraron gas en la lectura de 24 horas fueron incubados 24 horas más, procediendo entonces a repetir la lectura.
- Se efectuó subcultivos de cada tubo que muestro turbidez con producción de gas en un medio más selectivo y confirmatorio.

- Se registro, en la libreta de trabajo el número de tubos positivos en cada lectura. Los tubos positivos en el caldo lactosado fueron solamente presuntivos a coliformes. Por tanto, fue importante que sometieran a la prueba confirmativa todos los tubos positivos en la prueba presuntiva.

### **Prueba confirmativa**

El medio confirmativo para la enumeración de organismos coliformes (caldo lactosado con bilis y verde brillante) se incubaron hasta 48 horas a  $35-37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , mientras que para los coliformes termotolerantes (caldo EC) la incubación fue a  $44.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  (baño de agua termostatado) por 24 horas.

### **Prueba confirmativa para organismos coliformes**

Se agitó levemente los tubos positivos y rotados suavemente. Se evitó la película superficial, de estar presente, inclinando el tubo ligeramente. Con un asa de platino-iridio, o de níquel-cromo de 3.0 – 3.5 mm de diámetro, previamente esterilizada al calor bajo la llama de un mechero, se inoculó un tubo de caldo lactosado con bilis y verde brillante (CBVB) de cada tubo positivo resultante de la prueba presuntiva.

Se Incubó a  $35-37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  y examinó la producción de gas dentro de un período de 48 horas. Se consideró positiva la presencia de turbidez y cualquier cantidad de gas en el tubo de Durham.

Se registro, en la libreta de trabajo, el número de tubos positivos en la prueba confirmativa para la determinación del NMP de organismos coliformes.

### **Prueba confirmativa para coliformes termotolerantes**

Fue encendido el baño de agua termostatado y se aseguró que alcanzara la temperatura apropiada ( $44-44.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  según el método), posteriormente se agito levemente los tubos positivos y rotados suavemente de maneras que se evitara la película superficial, de estar presente, inclinando el tubo ligeramente. Se transfirió una porción del cultivo, con auxilio de un asa de platino-iridio, o de níquel-cromo de 3,0 – 3,5 mm de diámetro, previamente esterilizada al calor bajo la llama de un mechero, a un tubo de caldo EC de cada tubo positivo en la prueba presuntiva.

Una vez efectuada la inoculación, el tubo de cultivo fue colocado en el baño de agua termostatado ( $44-44.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ) dentro de los primeros 30 minutos posteriores a esta acción, para evitar la aparición de falsos positivos.

Se Incubó a  $44-44.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  y se examinó la producción de gas dentro de un período de 24 horas. Se considero positiva la presencia de cualquier cantidad de gas en el tubo de Durham.

Se registro, en la libreta de trabajo, el número de tubos positivos en la Prueba Confirmativa para la

determinación del NMP de organismos coliformes termotolerantes.

### **3.2 Determinación de parámetros químicos**

Para determinar las concentraciones de nitritos y amoníaco, se empleó el método estándar para la determinación de agua y agua residual (Apha, 1985).

#### **3.2.1 Método colorimétrico para la determinación de amoníaco**

A una porción de 25 mL de la muestra se le añadió 1 mL de reactivo de Nessler posteriormente se agito y se esperó 15 minutos, a continuación se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 420nm. Se realizo una curva de calibración con concentraciones conocidas.

*Calculo en mg/l de amoniaco en la muestra:*

$$C = F * DO$$

$F = \Sigma \text{ concentraciones} / \Sigma \text{ densidad óptica (en la curva)}$

$C = \text{Concentración de amoniaco en mg/L.}$

##### *- Curva de calibración*

Solución madre: 0,3 819 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  en 100 mL de agua y queda 1,22 mg/mL.

Solución patrón: Se tomó 1mL de la solución madre y se llevó a un matraz de 100 mL se enrasó con agua destilada y quedó 0,0122 mg/ mL de  $\text{NH}_3$ .

Se Transfirieron a cinco matraces de 100 ml, cada uno, las cantidades de solución patrón de 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 y 5.0 mL.

Se adicionó 1 mL del reactivo de Nessler. Posteriormente se enrasó con agua bidestilada y se agitó vigorosamente. Se dejó en reposo durante 15 min a temperatura ambiente. Paralelamente se preparó un blanco de reactivos y se tomaron las lecturas de absorbancia a 420 nm.

#### **3.2.2 Método espectrofotométrico para la determinación de nitrito**

Se hizo un tratamiento previo a la muestra para eliminar los sólidos en suspensión y el cloruro residual:

- Para eliminar los sólidos suspendidos se filtró a través de un filtro de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro.

- La eliminación del cloro residual se hizo por adición de una gota de tiosulfato de sodio 0.1 N a la muestra.

Posteriormente se ajustó el pH de la muestra a 5 – 9 con ácido clorhídrico 1N, enseguida se tomó 50 ml de la muestra y se le añadió 2 mL del reactivo de color y se le mezcló. Se dejó que se desarrollara la reacción en el transcurso de 2-8 minutos, posteriormente se dejó reposar 10 min. Se midió la absorbancia a 543 nm en celdas con 1 cm de paso de luz. Se midió con un blanco reactivo procesado de igual forma que las muestras.

#### - *Curva de calibración*

En matraces volumétricos de 50 mL se prepararon las disoluciones para la calibración a partir del patrón de 1 mg/L de N-nitrito. Se diluirán a 50 mL con agua destilada. A continuación se presentaron los valores de concentraciones y volúmenes a tomar del patrón para realizar la curva de calibración. Se adicionaron 2 mL del reactivo de color, enseguida se mezclan y se dejara que se desarrolle la reacción entre 2-8 min por último se midió la absorbancia a 543 nm.

$$\text{mg /L de N-nitrito} = \frac{\text{D.O} \times f \times \text{Volumen final}}{\text{ml de muestra tomados}}$$

Donde:

D.O: Densidad óptica de las muestras.

F: pendiente del gráfico de calibración (1/b)

Para calcular la concentración de nitritos se multiplicó los mg/L de N- Nitrito x 3,29.

### **3.3 Evaluación ecotoxicológica del riesgo ambiental**

Para evaluar la fitotoxicidad de las aguas utilizadas para regadío se utilizó el ensayo de toxicidad aguda en *Allium cepa* L. mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces en bulbos de cebolla. Se siguió los procedimientos descritos en (Castillo, 2004).

#### **3.3.1- Ensayo de toxicidad aguda en *Allium cepa* L.**

##### Diseño del ensayo

Se conformaron 3 grupos experimentales, en correspondencia con los 3 puntos de muestreo de aguas residuales utilizadas para regadío. Para cada uno de los grupos conformados se prepararon

concentraciones decrecientes (100, 75, 50, 25 y 5). Se utilizó agua destilada como control negativo y para preparar las diluciones de las muestras.

### Reactivos y Materiales

- Material biológico: Bulbos de *Allium cepa* L.
- Agua destilada
- Matraces aforados de 50 mL
- Probetas de 1000 mL
- Pipetas volumétricas de 5, 10 y 20 mL
- Tubos de ensayo de vidrio de 10 cm de largo y 2,5 cm de diámetro.
- Soporte para tubos
- Bisturí
- Regla graduada
- Papel aluminio
- Local con temperatura a  $22 \pm 2$  °C
- Termómetro ambiental

### Protocolo de ensayo

Los bulbos de cebolla amarilla fueron cultivados, de forma ecológica, por el productor Dr C. José Ignacio Rodríguez Bozón (“Baracoa”) en el Huerto “El Mambí” (diciembre-abril 2016) en la ciudad de Santa Clara. Los bulbos cultivados no fueron pequeños, de 1,5 cm de diámetro como recomienda la bibliografía (Castillo M., 2004), por lo que se usó otros de mayor diámetro (2,5 - 3 cm). Se seleccionó los bulbos en cada tratamiento, cuidando que fuesen de similar tamaño y que estuviesen libres de hongos o deformaciones, además de revisar y limpiar cuidadosamente la zona radicular para así garantizar que el desarrollo de los bulbos fuese uniforme. Los tubos se colocaron en un soporte, sobre una mesa que no presentaba vibraciones, y el local de estudio se mantuvo a temperatura  $22 \pm 2$  °C. Se evitó la iluminación directa cubriendo las muestras de agua con papel de aluminio. Durante el periodo de prueba, dos veces al día, se restableció el volumen perdido por evaporación o absorción. Al cabo de 72 horas se recolectaron los bulbos y se procedió a medir el largo promedio de las raíces

Las características del bioensayo de toxicidad aguda en bulbos de *Allium cepa* L se ven en la Tabla 4

Tabla 4. Condiciones para las pruebas de toxicidad en *Allium cepa* L.

<b>Prueba de toxicidad en <i>Allium cepa</i> L.</b>	
Tipo de ensayo	Estático
Temperatura	22 ± 2 °C
Iluminación	Indirecta
Recipientes	Tubos de ensayos de 10 x 2,5 cm de diámetro
Material biológico	Bulbos de cebolla
Condición de los bulbos	Pelar los bulbos y la base, evitar dañar el anillo radicular
Control	Agua destilada
Número de concentraciones	5
Duración de la prueba	72 horas
Efecto medido	Inhibición de crecimiento de las raíces
Resultado final	CI <sub>50</sub>

Fuente: Díaz M.C; Ronco A. y Pica Y. Capítulo 4: *Ensayo de toxicidad aguda con Allium cepa L. mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla.* en: Castillo, G. (ed.): Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México. IMTA., 2004: p. 47-52.

Posteriormente se calculó el promedio de la longitud de las raíces por concentración en cada grupo experimental y el porcentaje de inhibición de las raíces de cebolla con la siguiente ecuación (Castillo, M, 2004):

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{longitud del control} - \text{longitud de la muestra}}{\text{longitud del control}} \times 100$$

Además se determinó la media de las concentraciones, de cada réplica, para realizar la prueba de muestras relacionadas.

El estudio fue conducido teniendo en cuenta las Buenas Prácticas de laboratorio (BPL) de Toxicología Experimental. Todas las actividades fueron llevadas a cabo, en la UTEX, según lo establecido por los

Procedimientos Normativos Operacionales (PNO). Se cumplieron las normas de Bioseguridad establecidas para este tipo de ensayo y los requerimientos de bioética en la experimentación.

#### Listado de PNO empleados

PNO/AST/0010 Fregado de cristalería.

PNO/REG/0004 Redacción, compilación y manipulación del Protocolo de Trabajo.

PNO/ASC/0004 Instalación y funciones. Inspecciones por parte de la Unidad de Garantía de la Calidad (UGC).

#### Análisis estadístico

Se elaboró una hoja de cálculo en el Microsoft Office Excel 2007 y se utilizó el paquete estadístico SPSS, versión 20.0 para Windows y Start graphics Centurion XV. En el SPSS se realizó el análisis estadístico del ANOVA de un factor, con una prueba Post Hoc de Tukey para comparaciones múltiples entre las muestras.

En el Start graphics Centurion XV se realizaron pruebas múltiples de rango LSD para longitud promedio de raíces en cada muestra por concentración al 95 % de confianza.



# *Resultados*

## 4. RESULTADOS

Teniendo en cuenta que el reúso de aguas residuales, con tratamiento o no, en el riego agrícola constituye un peligro potencial para la salud humana y que éste es el destino planificado para las aguas del sistema hidráulico Arroyo Grande II, se evaluó la calidad del agua teniendo en cuenta indicadores microbiológicos, químicos y la inhibición de la elongación radicular en bulbos de *Allium cepa L.*

### 4.1 Determinación de indicadores de calidad microbiológica

#### 4.1.1 Técnica del Número Más Probable (NMP)

De acuerdo a la NC 27:2012 la presa arroyo Grande II está catalogada como un cuerpo receptor “Clase B” (Anexo 3 Tabla 1). Teniendo en cuenta esto, los parámetros microbiológicos evaluados en las muestras de agua utilizadas para regadío, de cada uno de los grupos experimentales (Tabla 5), no se ajustan a los Límites Máximos Admisibles (LMA) exigidos en dicha norma.

En la tabla 5 se muestran los resultados del monitoreo realizado en el mes de abril del 2016 así como la comparación con las normas vigentes NC 827:2010 Agua Potable — Requisitos Sanitarios y NC 1021:2014. Higiene Comunal — Fuentes de Abastecimiento de Agua — Calidad y Protección Sanitaria. En el país no se dispone de una norma que regule el uso de aguas residuales en el riego, ya que solo existe en relación con la salinización por manejo incorrecto de aguas con alto contenido de sales.

Tabla 5. Parámetros microbiológicos determinados de las muestras de agua utilizadas para regadío y el agua control.

Indicadores	Unidad de medida	Muestras			Control Negativo	LMA NC 827:2010 NC1021:2014
		1	2	3		
C.T	NMP/100mL	<b>&gt;1,6 x 10<sup>3</sup></b>	<b>&gt;1,6 x 10<sup>3</sup></b>	<b>&gt;1,6 x 10<sup>3</sup></b>	<1,8	< 2
C.TT	NMP/100mL	<b>&gt;1,6 x 10<sup>3</sup></b>	<b>&gt;1,6 x 10<sup>3</sup></b>	<b>&gt;1,6 x 10<sup>3</sup></b>	< 2	< 2

Leyenda: (C.T) Coliformes Totales; (C.TT) Coliformes Termotolerantes

Los valores en negritas corresponden a valores por encima de los valores límites establecidos

## 4.2 Determinación de parámetros químicos

La tabla 6 muestra los valores obtenidos de los indicadores nitrito y amoníaco de los tres puntos de monitoreo y el agua control. Se observó que los valores de Nitrito y Amoníaco presentaron concentraciones superiores a las que establecen las Normas Cubanas 827:2010 y NC 1021:2014, cuyo LMA es de 0,01 mg/L y No presencia, respectivamente.

Tabla 6. Indicadores químico determinados de las muestras de agua utilizadas para regadío y el agua control.

Parámetros	Unidad de medida	Muestras			Control Negativo	LMA NC 827:2010 NC1021:2014
		1	2	3		
Nitrito	mg/L	<b>0,06</b>	<b>0,05</b>	<b>0,02</b>	0,0	0,01
Amoníaco	mg/L	<b>0,38</b>	<b>0,14</b>	<b>0,16</b>	0,0	No presencia

Los valores en negritas corresponden a valores por encima de los valores límites establecidos

## 4.3 Evaluación ecotoxicológica del riesgo ambiental

### 4.3.1 Ensayo de toxicidad aguda en *Allium cepa* L.

Las figuras 2, 3 y 4 muestran la elongación promedio de las raíces, de cada una de las muestras analizadas, con respecto al control.

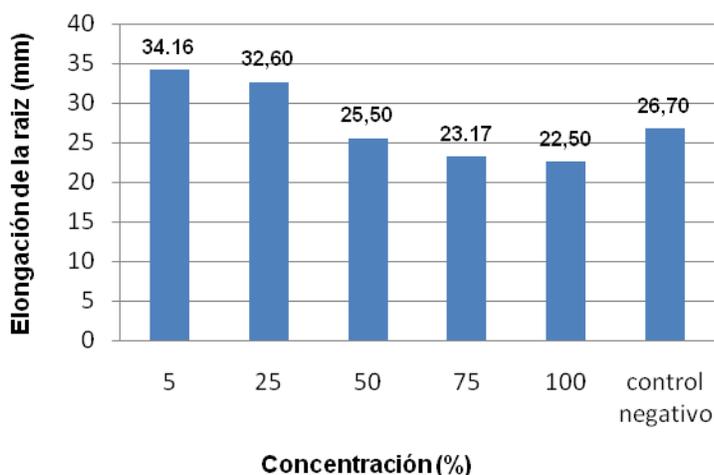


Figura 2. Elongación de las raíces de *Allium cepa* L en la Muestra 1 a las concentraciones

estudiadas.

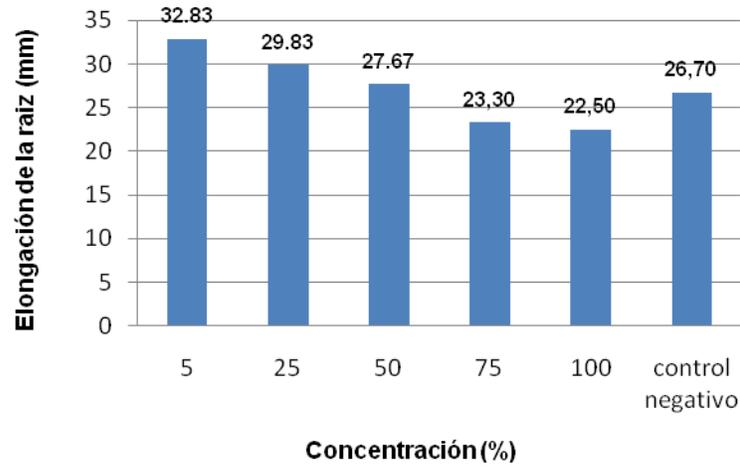


Figura 3. Elongación de las raíces de *Allium cepa* L en la Muestra 2 a las concentraciones estudiadas.

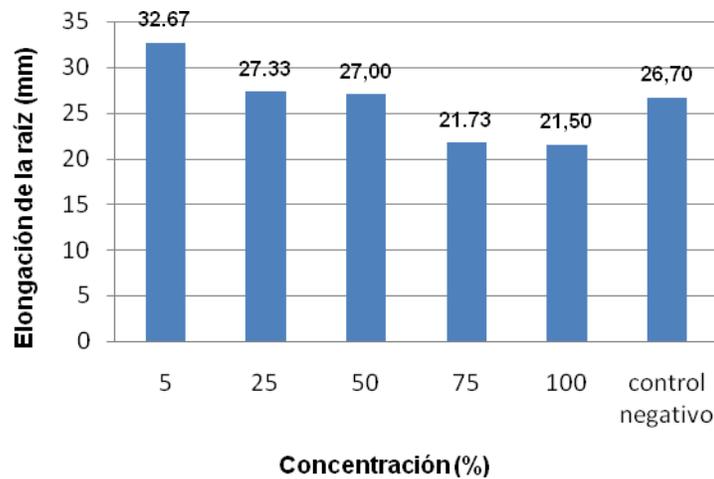


Figura 4. Elongación de las raíces de *Allium cepa* L en la Muestra 3 a las concentraciones estudiadas.

Tal como se observa en el anexo 5, la Muestra 1 fue la que mostró mayor dispersión de sus datos.

La tabla 7 muestra valores del porcentaje de inhibición, donde se pueden apreciar valores negativos, estos significan aumento del desarrollo radicular respecto al control negativo en lugar de decrecimiento. En todas las muestras evaluadas se observó inhibición del desarrollo radicular de los bulbos de *Allium cepa*, pero ningún valor determinado del porcentaje de inhibición fue mayor del 50 %, por tanto no fue posible calcular la concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>).

Tabla 7. Porcentaje de inhibición del desarrollo radicular medido para bulbos de *Allium cepa* en las diferentes concentraciones.

Concentración (%)	% de inhibición		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
100	15.73	15.73	19.47
75	13.22	12.73	17.60
50	4.49	- 3.63	- 1.12
25	- 22.09	- 11.72	- 2.36
5	- 27.94	- 22.96	- 22.47

Otros parámetros macroscópicos como: Cambio de coloración, formación de tumoraciones, necrosis radicular, cambio en la forma de las raíces, quebradizas o forma de ganchos, no fueron observadas para ninguna de las muestras estudiadas (Figura 6. A, B y C)

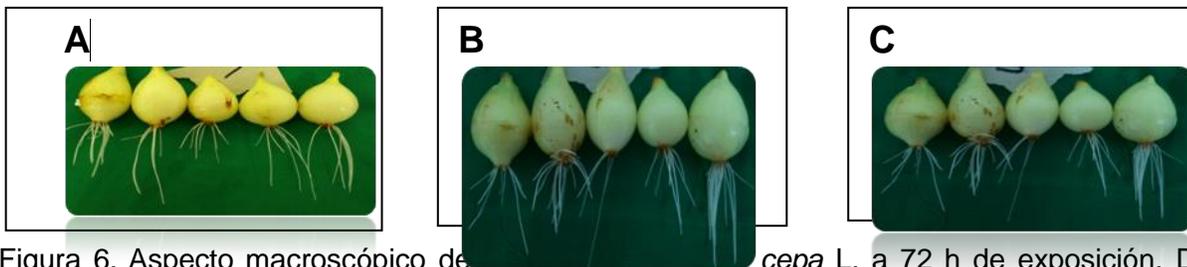


Figura 6. Aspecto macroscópico de *Allium cepa* L. a 72 h de exposición. De derecha a izquierda 5, 25, 50, 75 y 100%. A. Muestra 1. B. Muestra 2. C. Muestra 3.

Fuente: FOTOS DEL AUTOR

La figura 7 demuestra el comportamiento de la elongación radicular con respecto al porcentaje de inhibición, a mayor elongación radicular menor porcentaje de inhibición lo que respalda los valores que se obtuvieron en la tabla 7. Por tanto a medida que disminuye la concentración, en las diferentes

muestras, las líneas de elongación e inhibición se distancian de su punto más cercano o sea la elongación radicular y el porcentaje de inhibición son inversamente proporcionales.

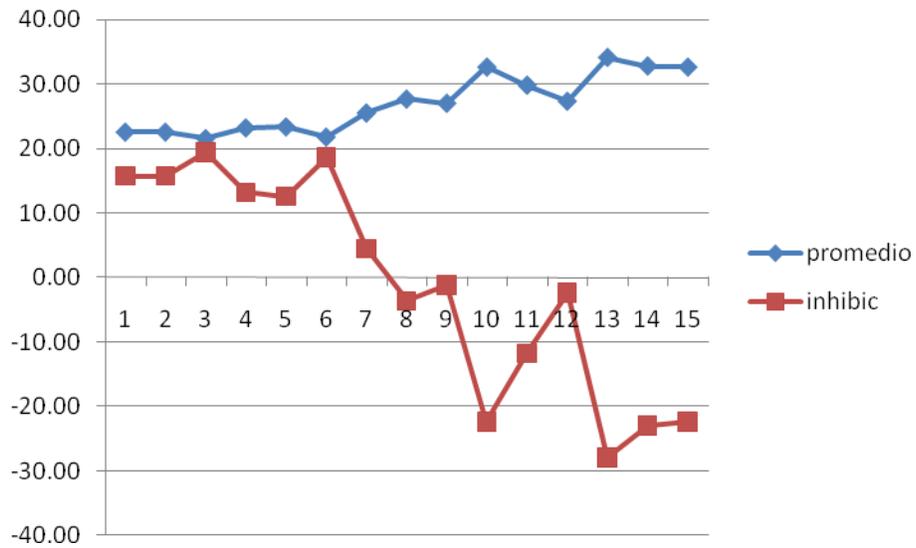


Figura 7. Comportamiento de la elongación promedio vs porcentaje de inhibición.



# *Discusión*

## 5. DISCUSIÓN

Es evidente que toda sustancia química puede involucrar peligros a la salud, a la seguridad de los seres vivos y al ambiente, si alcanza una concentración dada y la exposición se prolonga el tiempo suficiente para que ejerza sus efectos. Cuando los residuos entran al ambiente pueden ser ingeridos y retenidos en altas concentraciones por los organismos, ocasionándoles serios trastornos, incluso la muerte. Cuando estas concentraciones son bajas causan efectos subletales, como la reducción del tiempo de vida de ciertas especies, incremento de la susceptibilidad a enfermedades y efectos mutagénicos (Adriana *et al.*, 2012) Teniendo en cuenta todo lo anterior, se discuten los resultados obtenidos en la evaluación de la calidad de las aguas utilizadas para regadío en el “Valle del Yabú”.

### 5.1 Determinación de indicadores de calidad microbiológica

#### 5.1.1 Técnica del Número Más Probable (NMP)

Los valores microbiológicos obtenidos muestran valores de coliformes totales, entre los que podrían encontrarse bacterias del grupo coliforme de los géneros *Escherichia sp*, *Citrobacter sp*, *Klebsiella sp* y *Enterobacter sp* pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*,  $> 1,6 \times 10^3$  NMP/100 mL, valor que en opinión de este autor es considerablemente mayor incluso superando el valor máximo especificado en la normativa NC 27:2012, porque la determinación del NMP/100 mL se realizó por la serie de 15 tubos con sólo 3 diluciones y es el máximo valor que se obtiene bajo el método especificado. Los coliformes termotolerantes, subgrupo de las bacterias del grupo coliforme siendo *Escherichia coli* el principal representante, mostraron valores  $> 1,6 \times 10^3$  NMP/100 mL.

Los valores de los indicadores de calidad microbiológica determinados, son superiores a los permisibles para un cuerpo receptor “Clase B” (Anexo 3 tabla 1), los cuales están fijados en un valor de  $5 \times 10^3$  NMP/100 mL y  $1 \times 10^3$  NMP/100 mL respectivamente. O sea en este aspecto las aguas en estudio no cumplen con las regulaciones establecidas según la norma de referencia.

Como se observa en la tabla 5 los resultados de los indicadores microbiológicos  $> 1,6 \times 10^3$  NMP/100 mL para los tres puntos de muestreo, **son** superiores a los que establecen las normativas Cubanas vigentes NC 1021:2014 y NC 827: 2010. Este comportamiento coincide con estudio realizado en Arroyo Grande II, donde la presencia de coliformes totales y termotolerantes fue similar (Informe Técnico DPRH, 2012). Sin embargo en estudio realizado por (José, 2006) reportó que en el mismo sitio de estudio la presencia de coliformes totales fue  $> 4,6 \times 10^3$  NMP/100 mL pero no se detectaron coliformes termotolerantes.

Llama la atención que década atrás no se detectó presencia de coliformes termotolerantes, pero los valores encontrados actualmente son un indicador de que la contaminación ha variado en su composición y en altas concentraciones en los últimos años (Anexo 6).

Haciendo referencia a las Directrices de la OMS (1989) sobre calidad parasitológica y microbiológica de aguas residuales para uso en agricultura (Anexo 3 tabla 2) que establece  $1 \times 10^3$  NMP/100 mL, la concentración en los tres puntos de monitoreo también supera el valor máximo permitido.

Investigaciones realizadas sobre la capacidad auto depuradora de este sistema, permiten suponer que es un sistema ecológico bien estabilizado, sin embargo el reúso de ésta agua en el riego constituye un peligro sanitario ya que afecta la calidad bacteriológica de las fuentes de abasto cercanas, así como consecuencias negativas para la salud humana (DPRH, 2016).

Estos resultados permiten inferir que las aguas, embalsadas Arroyo Grande II y las de las máquinas de riego 1 y 2, se evalúan de No aptas desde el punto de vista microbiológico para el riego agrícola de cultivos y vegetales que se consumen de forma directa sin cocción, dado que el contenido de coliformes totales y termotolerantes están por encima del LMA en las referidas normas técnicas. Sin embargo, se evalúan de Aptas para el riego exclusivo de viandas y granos, siempre y cuando sean alimentos que requieran cocción en su elaboración.

## **5.2 Determinación de parámetros químicos**

Los seres vivos cuentan con una gran proporción de nitrógeno en su composición química. El nitrógeno oxidado que reciben como nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) las plantas es transformado a grupos aminoácidos (asimilación). Para volver a contar con nitrate hace falta que los descomponedores lo extraigan de la biomasa dejándolo en la forma reducida de ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), proceso que se llama amonificación y que luego el amonio sea oxidado a nitrate, proceso llamado nitrificación .

Los resultados de los análisis realizados en el CPHEM de Villa Clara, tabla 6, muestran concentraciones ligeramente elevadas de nitrito y similar comportamiento se observa respecto al contenido de amoníaco que también excede en todos los casos cuando se comparan con las normativas cubanas vigentes 827:2010 y 1021:2014, cuyo LMA es de 0,01 mg/L y No presencia. En estudio realizado por (Angulo, 2015) sobre Diagnóstico de la Ecotoxicidad de Afluentes del Río Guadalquivir, concluyen que los valores obtenidos de nitrito y amoníaco exceden los LMA establecidos por las normativas de su país, mientras que en la presente investigación, tiene valores entre 0,02 – 0,06 mg/L y 0,14 – 0,38 mg/L.

Al comparar los valores de los parámetros químicos se observó que la muestra 1, mostró valores superiores en comparación con las otras dos. Es conocido que Arroyo Grande II, recibe vertimientos de residuales con elevada carga orgánica, de forma permanente fundamentalmente domésticos e industriales, sin tratamiento o con un tratamiento deficiente, procedente de la ciudad de Santa Clara. Este comportamiento coincide con informe presentado por (Nelson *et al.*, 2009) en el que refiere que la presencia de estos elementos en el agua debe considerarse como un indicio fundamental de contaminación reciente.

El amoníaco se produce naturalmente por descomposición de la materia orgánica y también se fabrica industrialmente, El amoníaco a temperatura ambiente, es un gas incoloro de olor muy penetrante y nauseabundo. Se disuelve fácilmente en el agua y se evapora rápidamente, en disolución acuosa se puede comportar como una base y formarse el ion amonio  $\text{NH}_4^+$ . En estudios previos realizados en Colombia se afirmó que los niveles altos de nitrito en el agua puede ser causado bien como consecuencia de la oxidación del amoníaco o por la reducción microbiana o no de los nitratos. Según la OMS (2007) cuando el amoníaco está presente en el agua significa que la misma está contaminada con aguas residuales o desechos de zonas ganaderas.

El nitrito y amonio son compuestos iónicos que se encuentran en la naturaleza, formando parte del ciclo del nitrógeno, el nitrito es oxidado con facilidad por procesos químicos o biológicos a nitrato. En los suelos los vertidos residuales conteniendo nitrógeno orgánico son descompuestos para dar en un primer paso amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), que a continuación es oxidado a nitrito y a nitrato (Fernández y Vázquez, 2006).

Parte de este nitrato es absorbido por las plantas, que lo emplean en la síntesis de proteínas vegetales, pudiendo el resto pasar a las aguas subterráneas, entonces cuando hay altos niveles de estos compuestos en el agua utilizado para el riego conllevaría a una alta concentración de nitrato en los cultivos, lo que causaría un crecimiento excesivo del tallo y las y además afectaría el crecimiento radicular y la posible fijación de la planta al suelo. En el caso de los tubérculos afectaría negativamente en el proceso de tuberización lo que causaría mala calidad y bajo rendimiento del mismo.

La otra parte de estos compuestos se acumulan en suelo y van al manto freático lo que conllevaría a que las aguas subterráneas dejen de ser potables. La preocupación principal vendría por los efectos tóxicos producidos por un exceso de nitratos y amonio en el agua de consumo y en los alimentos por otra parte, pueden causar la formación endógena de N-

nitrosocompuestos, de efectos cancerígenos (como las nitrosaminas) Los N-nitrosocompuestos son agentes teratógenos, mutágenos y probables carcinógenos, altamente peligrosos para la salud humana. Además, el nitrito ya dentro del organismo, es isoelectricamente similar al oxígeno, si la concentración de nitritos en los fluidos corporales es muy alta, compete ocupando el lugar del oxígeno en la hemoglobina y bajo ciertas circunstancias se puede presentar una condición de anoxia. Esto ocurre cuando una persona ingiere altas cantidades de nitrito y por su metabolismo es susceptible a esta condición, puede morir por asfixia (Sardiñas *et al.*, 2008)

En la evaluación de la contaminación acuática los bioensayos de toxicidad son necesarias, debido a que las pruebas fisicoquímicas no resultan suficientes para la valoración de los potenciales efectos sobre los organismos en diferentes ecosistemas, no siendo posible determinar, por ejemplo, la interacción de los factores químicos y los efectos tóxicos de los contaminantes. Por lo tanto, un ensayo de toxicidad es una herramienta complementaria que permite detectar y evaluar la capacidad inherente de un agente de producir efectos tóxicos sobre organismos vivos utilizando especies de prueba (Barceló y Alda, 2008).

### **5.3.1 Ensayo de toxicidad aguda en *Allium cepa* L.**

El ensayo de toxicidad aguda en *Allium cepa* L., es una de las alternativas para determinar los estándares de calidad del agua, se basa en la identificación y cuantificación de cualquier afectación microscópica: daño microscópico y macroscópica: inhibición del crecimiento radicular, que puede producir un compuesto químico dado o una mezcla compleja, cuyos componentes no necesariamente tienen que ser conocidos. Esta afectación ocasionada se utiliza para indicar el estatus tóxico de la muestra probada (Silbergeld, 2012). Por otra parte, es de fácil y rápido desarrollo por lo que es posible desarrollar la prueba en pocos días. Este bioensayo de toxicidad ha sido recomendado y aplicado por diferentes organismos de protección ambiental para la evaluación ecotoxicológica de muestras ambientales y compuestos puros, además de la evaluación del efecto fitotóxico de plaguicidas sobre especies no blanco, necesarios para el registro de estos compuestos (OECD, 1984; Wang, 1987; US EPA, 1989)

Debe señalarse que en el ensayo de toxicidad aguda de 72 h de exposición (Anexo 7 A, B, C) al comparar la longitud promedio de elongación de las raíces, en cada una de las muestras tratadas, se encontraron diferencias significativas (Anexos 8).

Es importante destacar que en los tres puntos de muestreo el comportamiento, en lo que a Inhibición de la elongación radicular se refiere, fue según lo previsto (figuras 2, 3 y 4). Las muestras de agua

correspondientes al punto 1 provocaron estimulación del crecimiento de las raíces de *Allium cepa* L., hasta la concentración 25 %, a partir de la cual se observó inhibición. Las muestras de agua de los puntos 2 y 3 por su parte, indujeron una estimulación del crecimiento de las raíces hasta 50 % y se observó inhibición a partir de éste. Para todos los casos el efecto inhibitorio más relevante se evidenció a las concentraciones de 75 % y 100 %. De lo anteriormente expuesto se deduce que para el bioensayo de *Allium cepa* L., las muestras de agua analizadas son fitotóxicas a concentraciones superiores al 25 % en el caso del punto 1, mientras que las muestras correspondientes a los puntos 2 y 3 manifestaron su fitotoxicidad a partir del 75 %.

El ensayo utilizado es de toxicidad aguda por lo que en ensayos de toxicidad subcrónica y crónica pudieran obtenerse otros resultados. Una sustancia con propiedades toxicas puede serlo para un tipo de organismo pero no para otro, dependiendo con que compuestos de la célula interactúa, por ello, se considera que tres es el mínimo de especies con las que se debe evaluar la toxicidad de una muestra (Maria y Abad, 2015). En la presente investigación sólo se usó una especie por lo que se recomienda realizar bioensayos incluyendo otras especies.

En la figura 8 se demuestra estadísticamente que las aguas que corresponden a la muestra 1 evidenciaron una estimulación significativa a las concentraciones de 25 % y 5 % con respecto al control, en la muestra 2 se observó una estimulación significativa al 5% de concentración y en la muestra 3 también se observó estimulación significativa en las concentraciones de 25 % y 5 % con respecto al control.

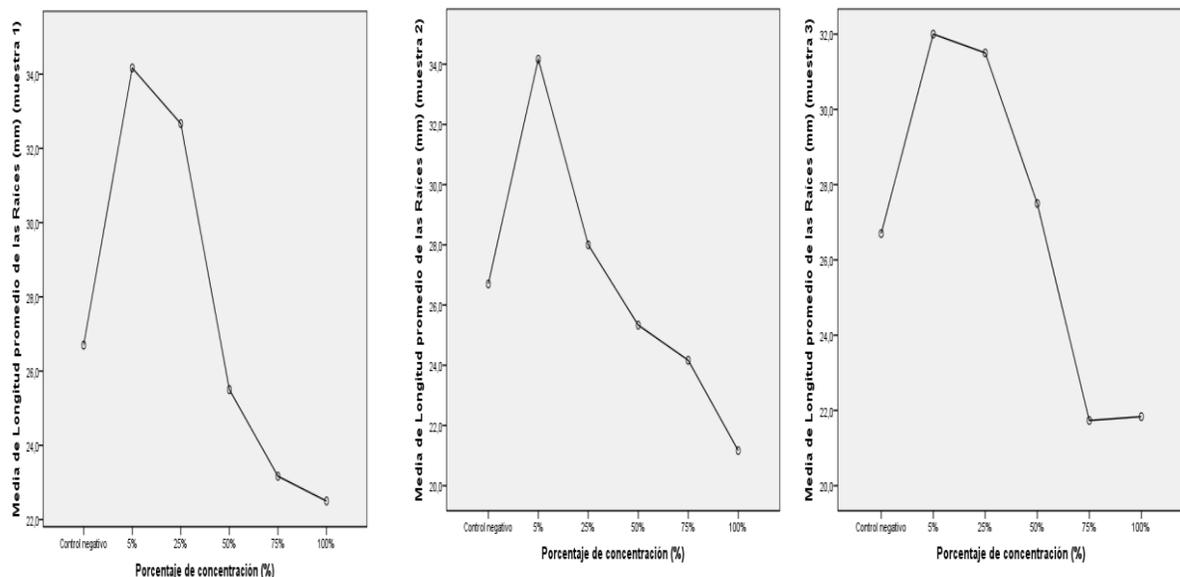


Figura 8. Comportamiento estadístico de las muestras. A. Muestra 1. B. Muestra 2. C. Muestra 3

También resalta que la muestra 1 a pesar de presentar inhibición a partir del 50 %, de igual forma presentó mayor promedio de elongación de sus raíces en las concentraciones de 25 % y 5 % al comparar con las otras muestras. En relación con lo anteriormente planteado este comportamiento se debe a la incorporación permanente que recibe, éste punto, de aguas residuales por lo que el efecto de los nutrientes disueltos en el agua, enmascaran el efecto de los contaminantes fitotóxicos presentes en su composición y cuyo efecto se hace evidente al disminuir la carga orgánica por el proceso de la dilución. Sin embargo, ninguno de los valores por sí solo podría explicar el comportamiento complejo de los resultados de los bioensayos, sino que más bien debe entenderse como una serie de procesos toxicocinéticos que involucran reacciones de sinergia, en los que se potencian los efectos individuales y antagonismos en los que ocurre lo contrario, el efecto individual es modificado por los efectos de los otros tóxicos presentes que pudieran no ser detectados por este bioensayo.

Autores como (Fiskesjö, 1995), indican que cuando un bulbo de cebolla (*Allium cepa L*) se rehidrata se produce una estimulación del crecimiento de las células, lo cual permite la elongación de las raíces de la planta. Sin embargo, cuando la hidratación se lleva a cabo en presencia de sustancias tóxicas, la división celular de los meristemas radicales puede inhibirse, ya sea retardando el proceso de mitosis o destruyendo las células. Este tipo de alteraciones generalmente impide el crecimiento normal de la raíz, y por tanto su elongación. Otros autores han mostrado en la literatura que el *Allium cepa L*, es una herramienta que no solo permite evaluar la toxicidad, también la mutagenicidad, genotoxicidad y citotoxicidad en efluentes reconocidos por estas características (Castillo, 2004).

La actividad tóxica, ya sea directamente o indirectamente, a través de la interferencia con el equilibrio de las comunidades naturales, puede llegar a representar incluso, en determinadas circunstancias, un riesgo relevante para las poblaciones humanas.

A la vista de los resultados presentados, podemos comentar que los mismos, aportan varios elementos significativos, el primero de ellos es que aún con concentraciones de especies químicas consideradas fuera de los LMA, en las muestras estudiadas, según las normas de referencias, también se detectaron efectos fitotóxicos en *Allium cepa* por lo que la sensibilidad de este ensayo es lo suficientemente alto para identificar la toxicidad de las aguas evaluadas. Los resultados obtenidos pueden ser extrapolados a otras especies, incluso el hombre, pues este ensayo se ha comparado con otros sistemas obteniéndose resultados similares (Fiskesjö, 1995). El segundo elemento a tener en cuenta es la factibilidad de acoplar al ensayo determinaciones químicas y microbiológicas para una caracterización toxicológica más

integral, brindándose así una información importantísima para la gestión de aguas residuales utilizadas para regadío.

Teniendo en cuenta que las aguas investigadas, son empleadas en el riego agrícola en el “Valle del Yabú”, debemos significar que los indicadores hasta aquí obtenidos, demuestran que estas aguas tienen mala calidad según la NC 27:2012 y afectan la elongación radicular. Información que también debe ser considerada por las autoridades sanitarias y el Ministerio de la Agricultura (MINAG).



# *Conclusión*

## CONCLUSIONES

1. Las aguas utilizadas en el Valle del Yabú” no son aptas para el riego agrícola, desde el punto de vista sanitario, en especial donde existan cultivos que se consuman crudos.
2. Las aguas utilizadas para el riego en el “Valle del Yabú” muestran valores de amoníaco y nitrito superiores a los LMA en las normas de referencia
3. En el ensayo de toxicidad aguda en *Allium cepa* L., las muestras de agua analizadas son fitotóxicas a concentraciones superiores al 25 % en el caso del Punto 1, mientras que las muestras correspondientes a los Puntos 2 y 3 manifiestan su fitotoxicidad a partir del 75 %.



# *Recomendaciones*

## RECOMENDACIONES

- Ampliar el estudio donde se incluya el muestreo en periodo húmedo
- Evaluar la toxicidad en varias especies representativas del compartimento ambiental.
- Realizar un estudio de ecotoxicidad crónica que permita reafirmar o contradecir los resultados obtenidos



---

*Referencias Bibliográficas*



---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, L. G. (2016) Cálculo de la Huella Hídrica en Cultivo de Papa en la Empresa Cultivos Varios Horquita In: *Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales*. Cuba: Univercidad Carlos Rafael Rodrigues.Cienfuegos, pp. 135.
- Adriana, M. J. G., Soto, M., Usma, J. I. y Gutiérrez, O. D. (2012) Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos7: 52-73.
- Alonso, L. P. (2017) CIUDADES Y COMUNIDADES SOSTENIBLES: RETOS PARA LOS AYUNTAMIENTOS ESPAÑOLES EN EL CUMPLIMIENTO DE LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LAS NACIONES UNIDAS PARA EL AÑO 2030. *Instituto Pascual Madoz*. 44.
- Angulo, R. (2015) Estudio Diagnóstico de la Ecotoxicidad de Afluentes del Río Guadalquivir, en el área comprendida entre Las Tipas y El Angosto de San Luis, 7: 28-46.
- Apha, A. (1985) *Standard Methods For Examinations of Water and Waster Water*
16. USA: Apha AWW.WPCF, 374, 379, 404 pp.
- Arkhipchuk, V., VD.Romanenko, Malinovskaya, M., LS, L. K., Solomatina, V. y Krot, Y. (2000) Toxicity assessment of water samples with a set of animal and plant bioassays: Experience of the Ukrainian participation in the watertox program. *Environm Toxicol*. 15: 277-286.
- .
- Barceló, L. D. y Alda, M. J. L. d. (2008) Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC (Barcelona).
- Calvo, M. d. (2016) Tratamiento avanzado de aguas residuales para riego mediante oxidación con ozono: una alternativa ecológica. Bogota colombia: Universidad Nacional de Colombia, pp. 10-12.
- Castillo, G. (2004) *Ensayo de toxicidad y método de evaluación de Calidad de Aguas* Instituto mexicano de Tecnología de Agua. Canada: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo.
- Cordón, M. R. A., Chacón, E. A. V. y Álvarez, N. G. (2016) Aplicación del Índice de Calidad del Agua (ICA)25.
- DPRH, D. P. d. R. H. V. C. (2016) Informe Técnico Sobre la evaluación de la calidad del agua del sistema Hidraulico Arroyo Grande I y II para su uso en el riego Agrícola del valle de Yabú.
- .
- Fernández, C. y Vázquez, Y. (2006) Origen de los nitratos (NO<sub>3</sub>) y nitritos (NO<sub>2</sub>) y su influencia en la potabilidad de las aguas subterráneas. Cuba. In: *Minería y Geología*. pp. 1-9.
- Forget, G., Ganon, P., Sánchez, W. y Dutka, B. (2000) Overview of methods and results of the eight country International Development Research Center (IDRC) WaterTox project. . *Environm Toxicol* 15: 264-276.
- Gaete, Soto, E., L. Troncoso, Bay-Sehmidt, E., Larrain, A. y Riveros, S. A. (2003) Efecto combinado y riesgo ecológico de las concentraciones de Zn, Cu y Cr presente en el Puerto de San Vicente, Chile. *Gayana Oceanológica*. 99-107.
- Gómez, L. M. y Ramírez, Z. (2004) Microalgas como biomonitores de contaminación. *Revista Cubana de Química*,. 16: 34-48.
- Hernández, M. del Carmen, C S. Holling y Levien, R. (2016) Problemas ambientales en Cuba
- José, L. P. F. (2006) Riesgos y consecuencias ambientales a los suelos y las aguas subterráneas por el uso del agua residual

generada en la Ciudad de Santa Clara. In: *QUÍMICA Y FARMACIA*. Cuba: UNIVERSIDAD CENTRAL "MARTA ABREU" DE LAS VILLA, pp. 99.

Kassab (1994) *allium cepa*.

Lorenzo, E. V., Ocaña, J. G. L., Fernández, L. A. y Venta., M. B. (2009) Reúso de aguas residuales domésticas para riego agrícola. Valoración crítica. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 40: 1-10.

Macan, K. (2007) Water resources and waste water management in Bosnia and Herzegovina, Croatia and the State Union of Serbia and Montenegro. *Water Policy*. 9: 319-343.

Maria, f. y Abad, C. (2015) Factores que modifican la toxicidad. *Instituto Teófilo Hernando Departamento de Farmacología*

Murray, K. E., Thomas, S. M. y Bodour, A. (2010) Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment. *Science of the Total Environment*. 158: 3462-3471.

Nelson, R., Rivera, F. E., Francisco, E., Rodrigo, P. y Patricia, M. (2009) La Calidad de las Aguas en el Curso Superior y Medio del Río Traiguén. IX Región-Chile *Universidad Católica de Temuco, Facultad de Recursos Naturales, Escuela de Ciencias Ambientales*. 4.

Parreiras (2005) Residuales.

Reolon, L. (2010) *Calidad de las Aguas*.

*INDICES DE CALIDAD DE AGUA* Buenos Aires-Argentina: División de Calidad Ambiental

Dirección Nacional de Medio Ambiente MVOTMA.

Robles y García, E. F. M. (2012) Crecimiento de cebolla (*Allium cepa* L.) var. "Roja Arequipeña" en función de la fertilización NxK. *Scientia Agropecuaria*. 1, 8.

Rodríguez, R. (2007) Ensayo de toxicidad aguda con la lombriz de tierra *Eisenia andrei* en: Ramírez, P. & A. Mendoza (compiladoras):.

Ronco, A., Díaz, M. C. y Pica, Y. (2004) Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México: 17-22.

Sánchez, A. D., Viviana, B., Graciela, E. R. y Sosa, M. C. (2015) Biocontrol con *Trichoderma* spp. de *Fusarium oxysporum* causal del "mal de almácigos" en pre y post emergencia en cebol. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*. Vol 114 (1): 61-70.

Sardiñas, O., García, M., Castillo, I. y Fernández, M. (2008) Evaluación físico-química del agua de depósitos positivos a focos de *Aedes aegypti*. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 2: 46.

Silbergeld, E. K. (2012) Métodos de ensayo en toxicología. *Toxicología*.

Smital, T. (2008) Acute and Chronic Effects of Emerging Contaminants. En: Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste: Occurrence. *Analysis and Effects*. 5: 105-142.

Tekniker (2010) CONTAMINANTES EMERGENTES EN EL AGUA CARACTERIZACIÓN, DEGRADACIÓN Y MONITORIZACIÓN. UNESCO-WWAP, O. M. S. (2015) *WATER FOR PEOPLE, WATER FOR LIFE*

Paris, France.: UNESCO/Mundi-Prensa Libros 24-34 pp.

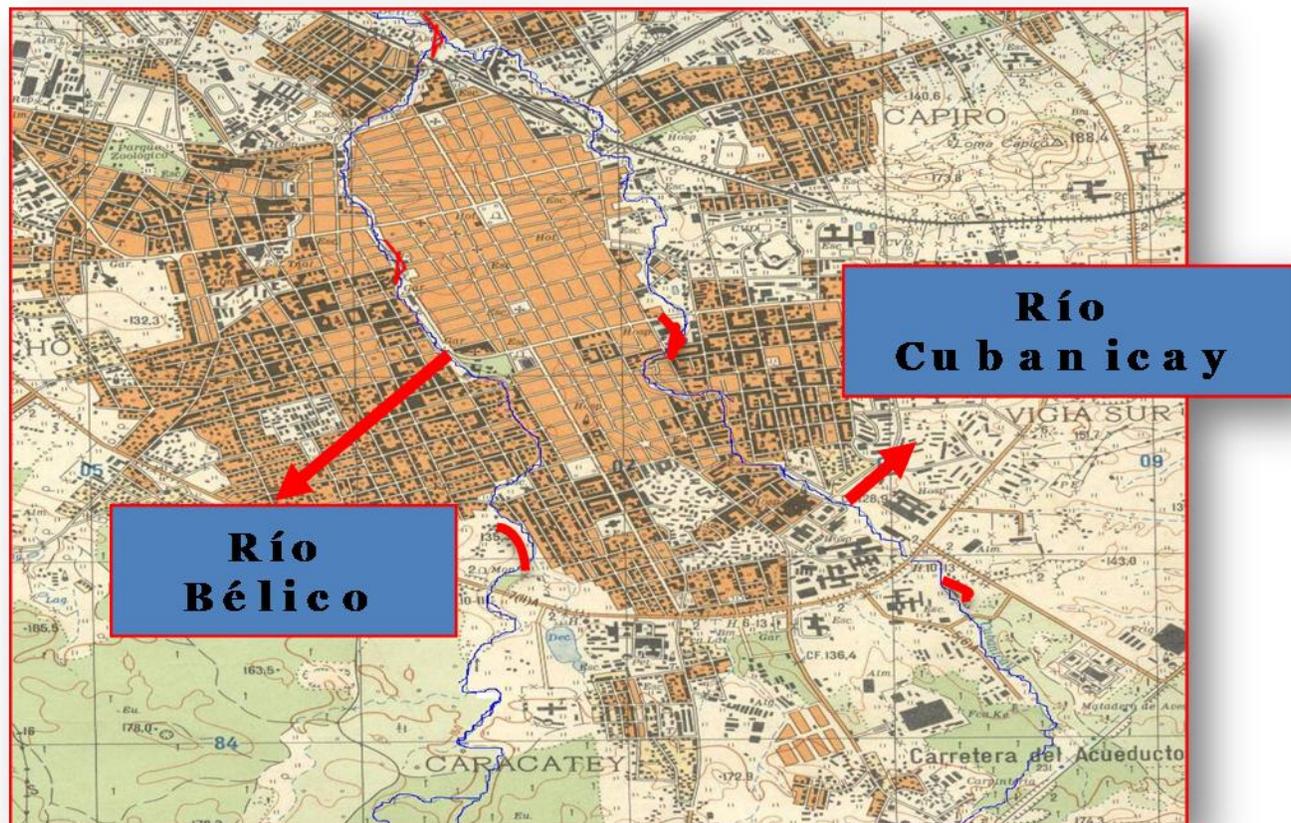
Veliz, J. I. Y. D., Gonzalez, A. B., Rodriguez, Y. S., Jiménez, M. R. y Castellanos, L. M. (2012) Ordenamiento y Gestión ambiental de los ríos Bélico y Cubanicay en la ciudad de Santa Clara". DELEGACION PROVINCIAL DE CIENCIA, TECNOLOGIA Y MEDIO AMBIENTE

UNIDAD DE CIENCIA Y TECNOLOGIA CUBA: Centro de Estudios y Servicios ambientales de Villa Clara (CESAM), pp. 1- 51.



*Anexos*

**ANEXO 1 Mapa de la ciudad de Santa Clara donde se ubican ríos Bélico y Cubanicy**



Fuente : (Veliz *et al.*, 2012)

## ANEXO 2. Áreas de estudio del “Valle del Yabú”, Santa Clara. Cuba



A. Área de estudio Presa Arroyo Grande II, UEB Albarran. FOTO DEL AUTOR



B. Área de estudio Máquina de riego 1. FOTO DEL AUTOR



C. Área de estudio Máquina de riego 2. FOTO DEL AUTOR

**ANEXO 2 D: PRICIPALES FUENTES DE CONTAMINANTES DE SANTA CLARA QUE TRIBUTAN AL BÉLICO Y CUBANICAY**

Fuentes Contaminantes de Santa Clara Que Tributan al Bélico y Cubanicay							DBO	DBO
No	Cuenca	Municipio	Nombre de la Fuente	Organismo	STRL	Calidad	Generada	Dispuesta
1	SG	Santa Clara	Asentamiento Santa Clara	INRH	NO	MAL	2308	874
2	SG	Santa Clara	Asentamiento Santa Clara (Sga Chica)	INRH	NO	MAL	1612	1240
3	SG	Santa Clara	Centro Penitenciario Provincial	MININT	NO	MAL	31	31
4	SG	Santa Clara	Centro Penitenciario VC (Guamajal)	MININT	TANQUE SPTICO	REGULAR	17	17
5	SG	Santa Clara	Centro Porcino Guamajal	MININT	NO	MAL	55	38
6	SG	Santa Clara	CUPET Empresa Comercializadora de Combustible VC	MINEM	LAGUNAS	MAL	3	3
7	SG	Santa Clara	Embotelladora Osvaldo Socarrás	MINAL	NO	MAL	8	5
8	SG	Santa Clara	Escuela de Hotelería y Turismo "Alberto Delgado "	MINTUR	TANQUE SPTICO	B	23	2
9	SG	Santa Clara	Escuela Pedagógica. Manuel Asuncue Domenech	MINED	NO	MAL	26	15
10	SG	Santa Clara	Fábrica de Mayonesa La Purísima	MINAL	NO	MAL	6	6
11	SG	Santa Clara	Facultad de Cultura Física Manuel Fajardo	MES	NO	MAL	7	4
12	SG	Santa Clara	Hogar de Impedidos Físicos	MINSAP	NO	MAL	2	2
13	SG	Santa Clara	Hospital Cardiocentro Ernesto Che Guevara	MINSAP	NO	MAL	8	8

14	SG	Santa Clara	Hospital Infantil Jose Luis Miranda	MINSAP	NO	MAL	24	24
15	SG	Santa Clara	Hospital Materno Mariana Grajales	MINSAP	NO	MAL	19	19
16	SG	Santa Clara	Hospital Militar	MINFAR	NO	MAL	10	5
17	SG	Santa Clara	Hospital Provincial Arnaldo Milián C.	MINSAP	NO	MAL	49	49
18	SG	Santa Clara	Hospital Psiquiátrico	MINSAP	NO	MAL	11	11
19	SG	Santa Clara	Hospital Universitario Celestino Hdez	MINSAP	NO	MAL	19	19
20	SG	Santa Clara	Matadero Chichi Padrón	MINAL	NO	MAL	307	307
21	SG	Santa Clara	Matadero de Aves	MINAG	PTR	MAL	1	1
22	SG	Santa Clara	Pasteurizadora La Villareña	MINAL	LAGUNAS	MAL	42	12
23	SG	Santa Clara	Procesadora de Pescado INDUVILLA	MINAL	NO	MAL	46	10
24	SG	Santa Clara	Torrefactora de Café	MINAL	NO	R	1	1
25	SG	Santa Clara	Universidad Médica Cerafín Ruiz de Sarate	MINSAP	NO	MAL	115	115
26	SC	Santa Clara	INPUD Primero de Mayo	MINDUS	MINDUS	MINDUS		
27	SC	Santa Clara	Planta Mecánica	MINDUS	MINDUS	MINDUS		
28	SC	Santa Clara	Fábrica de Bicicletas MINERVA	MINDUS	MINDUS	MINDUS		

**ANEXO 2 E: PRICIPALES FUENTES DE CONTAMINANTES CERCANOS A LOS RIOS BÉLICO Y CUBANICAY**



**Fuente: Cortesía de la Empresa de Proyectos e Ingeniería UEB- Villa Clara**

### ANEXO 3. Indicadores de contaminación microbiológica según normas vigentes

Tabla 1. Indicadores de contaminación fecal máxima admisible en los cuerpos receptores según su clasificación cualitativa

Categoría del cuerpo receptor	NMP/100 mL	NMP/100 mL	Relación CT/CF %
	C.Totales	C.Termotolerante	
A (superficial)	1 000	200	20 %
A (subterráneo)	100	20	20 %
<b>B (superficial)</b>	<b>5 000</b>	<b>1 000</b>	<b>20 %</b>
B (subterráneo)	250	50	20 %
C (superficial)	(1)	(1)	(1)
C (subterráneo)	(1)	(1)	(1)

Fuente: NC 27:2012 Vertimiento de Aguas Residuales a las Aguas Terrestres y al Alcantarillado.

Tabla 2. Directrices de la OMS (1989) sobre calidad parasitológica y microbiológica de aguas residuales para uso en agricultura.

Categoría	Condiciones de aprovechamiento	Grupo expuesto	Coliformes termotolerantes (media geométrica /100 mL)
A	Riego de cultivos que se consumen crudos, campos de deportes o parques públicos.	Trabajadores, consumidores, público.	< 1 000
B	Riego de cultivos de cereales, industriales, forrajeros, praderas y árboles	Trabajadores	No se recomienda ninguna norma.
C	Riego localizado de cultivos de la categoría B cuando los trabajadores ni el público están expuestos.	Ninguno	No es aplicable.

Fuente: Adaptado de Blumenthal *et al.*, 2000

## **ANEXO 4. GLOSARIO DE TERMINOS**

Bioensayo: Ensayo en el cual el poder o potencia de una sustancia es medido a través de la respuesta de organismos vivos o sistemas vivientes. Permiten dar una respuesta rápida en la evaluación directa de la toxicidad. Estos métodos son rápidos, poco onerosos y sensibles y se pueden aplicar en el laboratorio o sobre el terreno.

Biomarcadores: Los efectos de los contaminantes que pueden ser observados en los diferentes niveles de organización biológica, extendiéndose desde el nivel molecular y la respuesta fisiológica global del individuo, hasta los niveles por encima del organismo como: población, comunidad y ecosistema. Las alteraciones moleculares son usualmente las primeras respuestas detectables y cuantificables, destacándose por su capacidad para señalar la presencia de contaminantes aún a niveles sub letales.

CE50/CI50: concentración efectiva o de inhibición media: concentración del contaminante en agua, suelo o sedimento que se estima afecta al 50% de los organismos de ensayo. La CE50 y sus límites de confianza (95%) son usualmente derivados de análisis estadísticos

CL<sub>50</sub>: concentración letal media, concentración del material en agua, suelo o sedimento que se estima letal para el 50% de los organismos de ensayo. La CL<sub>50</sub> y sus límites de confianza (95%) son usualmente derivados de análisis estadísticos

Contaminante: Sustancia ajena, presente en un sistema natural en una concentración más elevada de lo normal por causa de actividad antrópica directa o indirecta. En un sentido más amplio se le define como la presencia de cualquier agente físico, químico o biológico, o de combinaciones de los mismos en lugares, formas y concentraciones tales y con tal duración que sean o puedan ser nocivos para la salud, la seguridad o bienestar de la población, o perjudiciales para la vida animal y vegetal, o que impidan el uso y goce de las propiedades y lugares de recreación.

Ensayo de toxicidad: determinación del efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Mide las proporciones de organismos afectados (efecto cuantitativo) o el grado de efecto (graduado) luego de la exposición a la muestra.

Índices de toxicidad: expresan los resultados de diferentes ensayos de toxicidad como un único valor numérico que clasifica, según categorías, a la muestra. No existen reglas fijas para la designación de los índices.

Límite de determinación: Contenido más pequeño de sustancia analizada respecto al cual el método ha sido validado con una exactitud y precisión determinadas

Límite de detección: El menor contenido a partir del cual resulta posible deducir la presencia de la sustancia analizada con una seguridad estadística razonable.

LOEC: concentración más baja a la cual se observa efecto (LOEC, por sus siglas en inglés).

NOEC: concentración a la cual no se observa efecto (NOEC, por sus siglas en inglés)

TOEC: concentración umbral a la cual se observa efecto (media geométrica del NOEC y LOEC)

Tóxico: Es cualquier sustancia que puede producir algún efecto sobre un ser vivo y alterar su equilibrio dinámico. No hay sustancias atóxicas, hasta el oxígeno y el agua son tóxicos, la dosis determina la toxicidad de una sustancia.

Toxicidad aguda: efecto adverso (letal o subletal) inducido sobre los organismos de ensayo en prueba durante un periodo de exposición del material de ensayo, usualmente de pocos días.

Toxicidad crónica: efectos tóxicos a largo plazo relacionados con cambios en el metabolismo, crecimiento o capacidad de supervivencia.

Xenobiótico: Agente que es externo a la esfera natural. Normalmente se identifica con las sustancias químicas sintéticas. Lo que es extraño a la vida, toda sustancia ajena a un ser vivo, tales como agentes benignos, los inactivos y los nocivos.

## ANEXO 5. Gráfico de dispersión

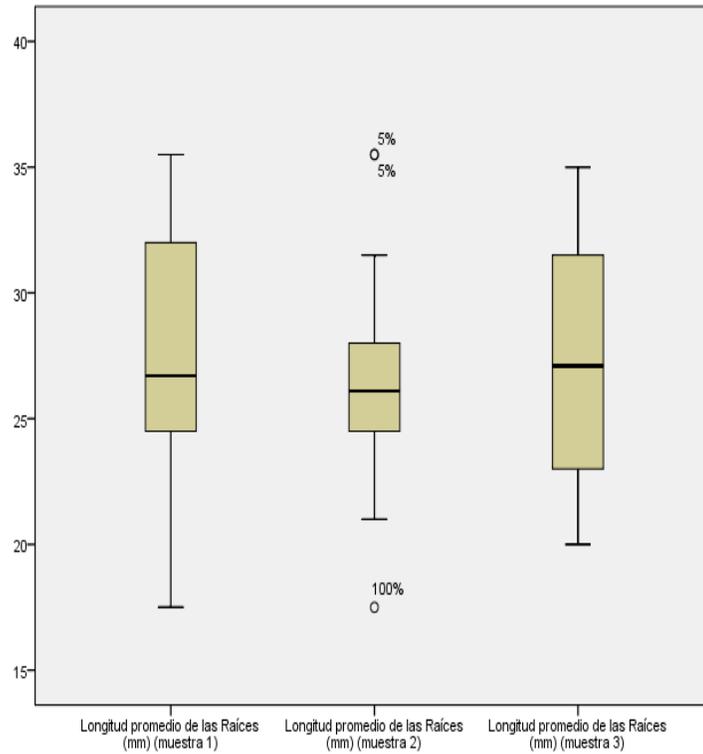


Figura 5. Las cajas representan la longitud promedio de las raíces de las muestras a las 72 horas de exposición.

**ANEXO 6 Base de datos, parámetros Físico Químico y Microbiológico, del embalse Arroyo Grande II, la cual data desde 1975**

Tabla 8. Resumen parámetros Químico y Microbiológico, del embalse Arroyo Grande II

<b>Parámetros</b>	<b>Unidad de Medida</b>	<b>Valor Medio Periodo seco</b>	<b>Valor Medio Histórico</b>
Nitrito (NO <sub>2</sub> )	mg/L	0.33	0.30
Amoníaco (NH <sub>3</sub> )	mg/L	0.703	0.90
Coliformes Totales	NMP/100 ml	9	5
Coliformes Termotolerantes	NMP/100 ml	2	2

Fuente: Delegación Provincial de Recursos Hidráulicos Villa Clara (DPRH)

**Anexo 7. Bulbos de *Allium cepa* L. empleados en el bioensayo**



**A.** Al inicio del ensayo



**B.** Durante el ensayo



**C.** Al final del tiempo de exposición (72 h). FOTOS DEL AUTOR

**ANEXO 8 Pruebas de Múltiple Rangos para Longitud Promedio de Elongación por concentración.**

Tabla 8. Comportamiento longitud promedio de elongación y concentración, Muestra 1.

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
5 - 25		1,5	5,42741
5 - 50	*	8,66667	5,42741
5 - 75	*	11,0	5,42741
5 - 100	*	11,6667	5,42741
25 - 50	*	7,16667	5,42741
25 - 75	*	9,5	5,42741
25 - 100	*	10,1667	5,42741
50 - 75		2,33333	5,42741
50 - 100		3,0	5,42741
75 - 100		0,666667	5,42741

\* indica una diferencia significativa.

Tabla 9. . Comportamiento longitud promedio de elongación por concentración, muestra 2

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
5 - 25	*	6,16667	4,38768
5 - 50	*	8,83333	4,38768
5 - 75	*	10,0	4,38768
5 - 100	*	13,0	4,38768
25 - 50		2,66667	4,38768
25 - 75		3,83333	4,38768
25 - 100	*	6,83333	4,38768
50 - 75		1,16667	4,38768
50 - 100		4,16667	4,38768
75 - 100		3,0	4,38768

Tabla 10. Comportamiento longitud promedio de elongación por concentración, muestra 3

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
5 - 25		0,5	3,88888
5 - 50	*	4,5	3,88888
5 - 75	*	10,2667	3,88888
5 - 100	*	10,1667	3,88888
25 - 50	*	4,0	3,88888
25 - 75	*	9,76667	3,88888
25 - 100	*	9,66667	3,88888
50 - 75	*	5,76667	3,88888
50 - 100	*	5,66667	3,88888
75 - 100		-0,1	3,88888