

Calidad ecotoxicológica de los sedimentos en fiordos del sur de Chile

Ecotoxicological quality of sediments in fiords of southern Chile

Anny Rudolph¹, Paulina Medina¹, Ramón Ahumada¹ y Vanessa Novoa¹

¹Departamento de Química Ambiental, Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción, Casilla 297, Concepción, Chile. anny@ucsc.cl

Abstract. - We analysed the ecotoxicological quality of sediments in Moraleda, Puyuguapi and Elefantes Channels and Aysén Fjord, located between 44° and 46.5°S, using non-specific tests in order to evaluate their base conditions in terms of possible pollutants that may have been introduced in the area. The survival tests with *Ampelisca araucana* and *Tisbe longicornis* and fertility test with *Arbacia spatuligera* indicate that the sediments do not present problems of toxicity. Nevertheless, the increased cellular density observed in the tests with microalgae (*Dunaliella tertiolecta*, *Dunaliella salina* and *Isochrysis galbana*) indicates the accumulation of sediments rich in nutrients within the area.

Key words: *Arbacia spatuligera*, *Ampelisca araucana*, *Tisbe longicornis*, microalgae

INTRODUCCIÓN

La zona de fiordos y canales del Sur de Chile, por su particular geografía se ha visto enfrentada en las últimas décadas a estrés ambiental, debido a la explotación de sus recursos naturales (pesquerías y silvicultura), crecimiento de centros urbanos e industriales y actividades turísticos. Su columna de agua presenta una estructura de dos capas, una superficial de mayor variabilidad y una profunda homogénea, separadas por un gradiente vertical (Valle-Levinson *et al.* 2002, 2007). La capa superficial presenta aguas cálidas, menos salinas, con alto contenido de oxígeno disuelto (> 120 % de saturación), alta clorofila *a* y baja concentración de nutrientes (Silva *et al.* 1997, Guzmán & Silva 2002). El contenido menor de oxígeno disuelto puede alcanzar valores de 2,5 ml L⁻¹ en la cabeza los fiordos Puyuguapi y Aysén, no registrándose zonas anóxicas (Silva *et al.* 1997, Silva & Guzmán 2006).

La región presenta elevadas tasas de precipitación y bajas temperaturas, condiciones que favorecen una potencial transferencia de contaminantes desde la atmósfera a la zona costera y a los cuerpos de agua y sedimentos (Wania & Mackay 1996). La entrada adicional de sustancias químicas a la columna de agua, proveniente de la actividad humana queda registrada en los sedimentos a través de fracciones de los contaminantes que reacciona con el material particulado o coloidal y que es atrapada en sitios sedimentarios (Pineda 2009). El conocimiento y vigilancia de un ecosistema permite, mediante la información recopilada, estar en condiciones de predecir a través de la

implementación de modelos, los cambios ambientales que pueden ocurrir a futuro (Sánchez-Bayo 2009, Choueri *et al.* 2010).

Los estudios de toxicidad han demostrado que las distintas especies de organismos presentan un amplio rango de sensibilidades a una extensa diversidad de los contaminantes ambientales, lo que hace recomendable utilizar una batería de especies distintas para evaluar la toxicidad. Para que las pruebas puedan constituirse en una técnica de evaluación aceptada, de los organismos seleccionados, debe conocerse su biología, factibilidad de mantenerse 'in vitro', presentar alta sensibilidad a los tóxicos y ser factible la reproducibilidad de los ensayos (Silva *et al.* 2007).

El presente estudio analiza a través de bioensayos no específicos la calidad ecotoxicológica de los sedimentos en los canales Moraleda, Puyuguapi, Golfo Elefantes y Fiordo Aysén, ubicados entre los 44° y 46,5°S, sur de Chile, con el objeto de evaluar, utilizando especies blanco, su condición toxicológica en relación a posibles contaminantes biodisponibles, introducidos o generados en el área. Para cumplir con este objetivo se seleccionaron como indicadores de la calidad del sedimento, pruebas de supervivencia con juveniles del anfípodo epibentónico *Ampelisca araucana* (Gallardo, 1962) y copépodo harpacticóide *Tisbe longicornis* (George, 1993), pruebas de fecundación con gametos del equinodermo *Arbacia spatuligera* (Valenciennes, 1841) y de densidad celular (cél ml⁻¹) con la microalga *Isochrysis*

galbana (Parke), *Dunaliella tertiolecta* (Butcher, 1959) y *Dunaliella salina* (Dunal). La información resultante puede ser utilizada con diversos fines, *e.g.*, comparación, regulación e implementación de modelos en la predicción de posibles alteraciones sobre el ambiente estudiado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de sedimentos se obtuvieron siguiendo el eje central de los cuerpos de agua, en noviembre de 2007, durante la Campaña CIMAR 13 Fiordo, desde el buque 'AGOR Vidal Gormaz' utilizando un box corer de 0,08 m³. Se recolectaron aproximadamente 250 g de los primeros 5 cm de sedimentos, obteniéndose 2 muestras en canal Moraleda, 3 en el canal Puyuguapi, 2 en Golfo Elefantes y 6 en el Fiordo Aysén (Fig. 1). Cada muestra fue obtenida en triplicado y colocadas en bolsas plásticas, que fueron guardadas en envases de polietileno rotulados y congelados a -18°C. Dado lo lejano del sitio de muestreo y el extenso periodo del crucero, los análisis se realizaron entre 30 y 80 días después de su recolecta y arribo del crucero.

Las especies *Tisbe longicornis*, *Ampelisca araucana* y *Arbacia spatuligera* fueron recolectadas en un área no alterada en la Bahía Coliumo 36°50'S, 72°55'W (Fuentes-Ríos *et al.* 2005, Altamirano-Chovar *et al.* 2006) y cultivadas en condiciones de laboratorio (acuarios de vidrio, aireación constante y alimentación en base a microalgas, *Dunaliella tertiolecta*, *Dunaliella salina* e *Isochrysis galbana* adquiridas en el 'Laboratorio de Cultivos' de la Universidad de Concepción.

En las pruebas de toxicidad se trabajó exponiendo directamente a los organismos con los sedimentos o a un lixiviado de ellos. El lixiviado de cada muestra se realizó según la metodología de Dinnel & Strober (1985), agitando 50 g de sedimento con 50 mL de agua de mar filtrada y aireada, en un Heidolph Unimax® 2010 a 5 rpm por 10 min, para posteriormente dejar en frío (4°C) por 12 h, separando la fase líquida (lixiviado) de los sedimentos. Los controles en cada ensayo fueron realizados según las sugerencias de cada metodología.

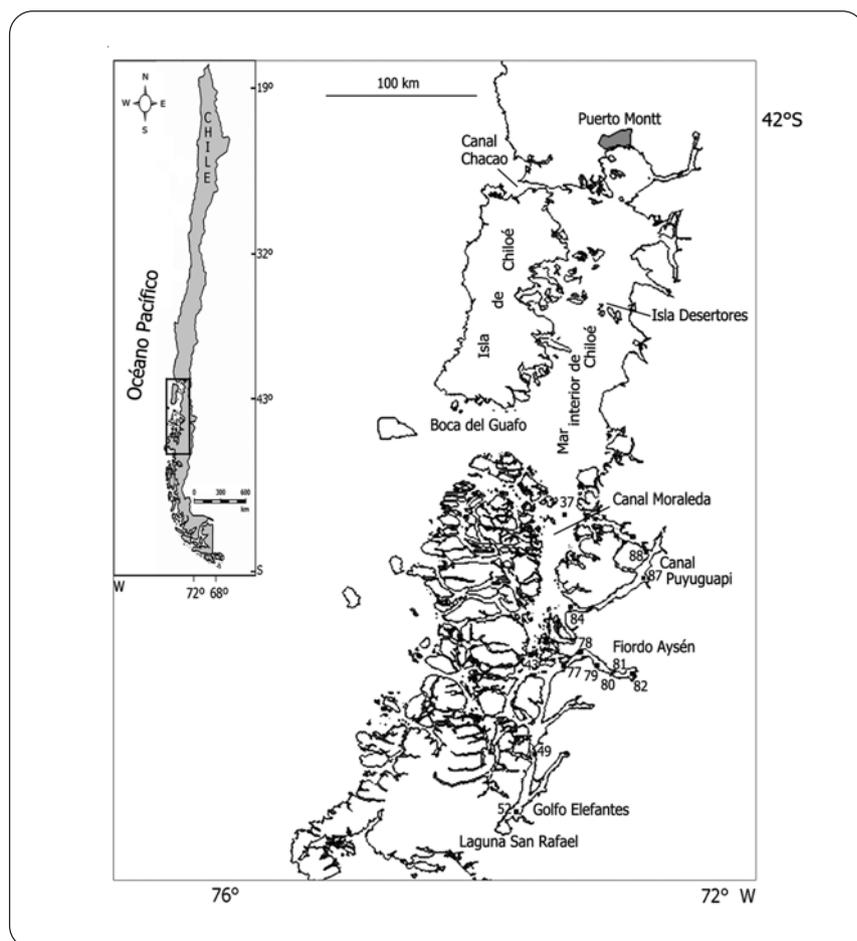


Figura 1. Área de estudio en Canal Moraleda, Canal Puyuguapi, Fiordo Aysén, Golfo Elefantes y Mar Interior de Chiloé / Area of study at Moraleda and Puyuguapi Channels, Aysén Fjord, Elefantes Gulf and the Inland Sea of Chiloé

PRUEBA DE SUPERVIVENCIA CON *AMPELISCA ARAUCANA*

El ensayo se condujo siguiendo las sugerencias de Soto *et al.* (2000), esto es, los organismos fueron recolectados desde los sedimentos marinos con un tamiz de 500 μm . En el laboratorio se seleccionaron organismos de *ca.* 6 mm de longitud los que fueron mantenidos con aireación constante a 13°C y alimentación en base a microalgas durante su aclimatación. Para el ensayo se utilizaron cubetas con 200 g de sedimentos y 300 mL de agua de mar filtrada, con 5 individuos por cubeta y en triplicado; por un periodo de 10 días, sin aireación ni alimentación. Los resultados fueron contrastados contra controles negativos, preparados con sedimentos del lugar de extracción de los organismos. Los ensayos de sensibilidad (control positivo) se condujeron con soluciones de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (p.a) entre 0 y 100 mgL^{-1} por un periodo de 4 días.

PRUEBA DE SUPERVIVENCIA CON *TISBE LONGICORNIS*

El ensayo se realizó siguiendo la metodología propuesta por Larraín *et al.* (1998a); esto es, se seleccionó hembras ovígeras adultas con un tamiz de 250 μm , y luego fueron mantenidas en acuarios de vidrio, con aireación constante y alimentación en base a microalgas, hasta la eclosión de las larvas. El ensayo consideró organismos juveniles de una misma cohorte de *ca.* 15 días de vida (*i.e.*, 0,6 mm de longitud). Se utilizó lixiviado preparado con el sedimento bajo prueba. Los resultados se contrastaron con controles negativos. Para las pruebas de sensibilidad se utilizó soluciones de CuSO_4 (p.a) entre 1 y 100 μgL^{-1} . La duración de los ensayos fue de 48 h en forma paralela, con 5 individuos por cubeta y en triplicado.

PRUEBA DE FECUNDACIÓN CON *ARBACIA SPATULIGERA*

El ensayo se realizó siguiendo la metodología propuesta por Zúñiga (1999). Básicamente consistió en producir una fecundación artificial de los óvulos del erizo *A. spatuligera*, en presencia de un lixiviado preparado con el sedimento bajo prueba. Los resultados se contrastaron con sus controles negativos. Para el análisis de sensibilidad se utilizó soluciones de CuSO_4 (p.a) entre 0 y 50 μgL^{-1} . Los ensayos fueron realizados por un periodo de 60 min, utilizando soluciones de 7×10^7 espermios mL^{-1} y 2.000 óvulos mL^{-1} en cuadruplicado.

PRUEBA DE DENSIDAD CELULAR CON MICROALGAS

Estas se realizaron según las sugerencias metodológicas propuestas por USEPA (1988), Cifuentes *et al.* (1998) y la NCh 2706 (2002)¹. Las microalgas fueron cultivadas con el medio de cultivo Guillar a 17°C \pm 1 y luz PAR continua de 28.000 lux. Se utilizó 10 mL del lixiviado preparado con el sedimento bajo prueba e inóculos de cultivo inicial. Los resultados se contrastaron con controles negativos. El análisis de sensibilidad se realizó con concentraciones de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (p.a) entre 0 y 100 mgL^{-1} . Los ensayos se realizaron en forma paralela y en cuadruplicado. La densidad celular (cél mL^{-1}) fue determinada mediante recuento de células con cámara de Neubauer a tiempo cero y a 96 h.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los diferentes índices de los ensayos de sensibilidad *i.e.*, CL_{50} (concentración letal para el 50% de los organismos sometidos al ensayo) para *Ampelisca araucana* y *Tisbe longicornis*; CE_{50} (concentración efectiva en el 50% de los organismos sometidos al ensayo) en el ensayo de *Arbacia spatuligera* y el CI_{50} [concentración que inhibió al 50% el crecimiento celular (cél mL^{-1}) de la microalga] en *Dunaliella tertiolecta*, *Dunaliella salina* e *Isochrysis galbana*, fueron calculados mediante el análisis probit (EPA Probit Analysis Program, versión 1,4) (Finney 1971). Para analizar la normalidad de los datos se aplicó el test de Shapiro-Wilk y para observar la homogeneidad de la varianza se utilizó el test de Cochran. Los porcentajes de supervivencia, fecundación y densidad celular de cada especie fueron comparados con su respectivo grupo control, a través de una prueba paramétrica ANDEVA de una vía. En el caso de encontrar diferencias significativas, se aplicó una prueba *a posteriori* de Tukey. Los resultados del aumento de densidad celular en el ensayo con *I. galbana* no arrojaron una distribución normal por lo que se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis; las diferencias significativas fueron analizadas *a posteriori* a través de comparaciones múltiples de los valores de *P* de las muestras y del control. Todos los análisis estadísticos se realizaron a través del programa computacional STATISTICA versión 6.0 (StatSoft. Inc. 2001)².

¹NCh 2706. 2002. Calidad de agua - bioensayo de inhibición de crecimiento de algas en agua dulce con *Selenastrum capricornutum* (*Raphidocelis subcapitata*). Instituto Chileno de Normalización, INN, Santiago de Chile, 28 pp.

²StatSoft. Inc. (2001). Statistica (Data Analysis Software System). <www.statsoft.com>.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La sensibilidad de los organismos blanco utilizados en este estudio, frente a los tóxicos utilizados *i.e.*, dicromato de potasio o sulfato de cobre (control positivo), fue semejante a los informados, lo que los hace resultados factibles de comparar respecto de la calidad del sedimento. En los ensayos con *Ampelisca araucana* frente a soluciones de dicromato de potasio el CL_{50} obtenido fue de $55,37 \text{ mgL}^{-1}$ semejante a lo informado por Larraín *et al.* (1998b) y Soto *et al.* (2000); en los ensayos con *Tisbe longicornis* el CL_{50} estimado fue de $56,92 \text{ } \mu\text{gL}^{-1}$ para sulfato de cobre, semejante a lo informado por Larraín *et al.* (1998a); para *Arbacia spatuligera* la CE_{50} fue de $16,51 \text{ } \mu\text{gL}^{-1}$ de sulfato de cobre semejante a los informados por Aguirre-Martínez *et al.* (2009) y Rudolph *et al.* (2010). Los ensayos con microalgas *i.e.*, *Isochrysis galbana*, *Dunaliella tertiolecta* y *D. salina*, mostraron IC_{50} de 40; 65,47 y 66,14 mgL^{-1} frente a soluciones de dicromato de potasio respectivamente, sensibilidades semejantes a los informados en Rudolph *et al.* (2010).

Los sedimentos en las localidades analizadas no evidenciaron problemas de toxicidad, ya que se observaron supervivencia promedio del 100% en las especies blanco *i.e.*, *Ampelisca araucana* y *Tisbe longicornis*, sin diferencias

significativas respecto de los controles ($F_{(13,28)} = 0,863$; $P = 0,596$ y $F_{(13,28)} = 0,92$; $P = 0,54$, respectivamente).

La prueba de fecundación con gametos de *Arbacia spatuligera* mostró diferencias significativas en los porcentajes de fecundación con el grupo control ($F_{(13,28)} = 7,3$, $P < 0,05$) en las muestras 52 (con un 97 %) y 80 (con un 97,5 %). No obstante, los porcentajes medidos superan el 95 % de fecundación, lo que acuerdo a Aguirre-Martínez *et al.* (2009), para pruebas de toxicidad con lixiviado del sedimento, puede considerarse semejante al comportamiento del control.

En los ensayos con microalgas, *Isochrysis galbana* mostró un crecimiento significativo respecto del control en el 69% de las muestras ($H_{(13,42)} = 29,34$, $P = 0,0058$) *i.e.*, 49, 52, 77, 78, 79, 80, 81 y 84 (Fig. 2). En los ensayos con *Dunaliella salina*, se observó diferencias significativas sólo en el 39% de las muestras respecto del control ($F_{(13,28)} = 14,53$, $P < 0,01$) en las muestras 78, 81, 82, 87 y 88 (Fig. 3) y en los ensayos con *Dunaliella tertiolecta* se observó una situación similar, donde igual número de muestras registró una mayor densidad celular respecto del control ($F_{(13,28)} = 2,41$, $P = 0,025$), *i.e.*, 78, 81, 82, 87 y 88.

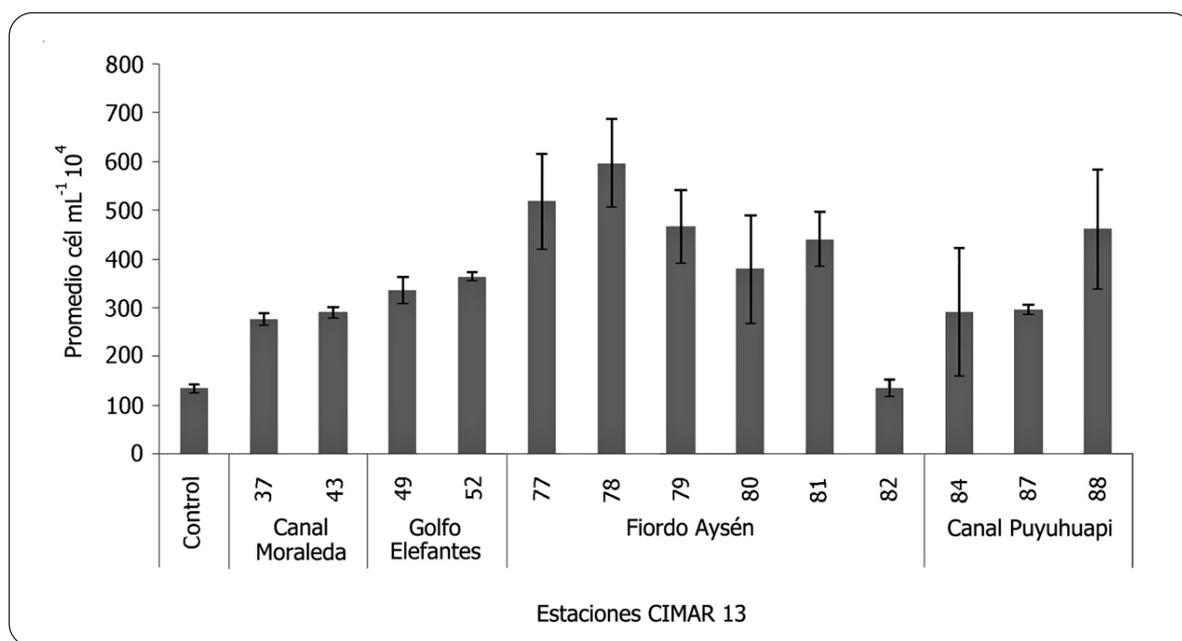


Figura 2. Porcentaje de crecimiento promedio de *Isochrysis galbana* en elutriados de sedimentos y controles. Campaña CIMAR 13, noviembre 2007. Línea sobre cada barra muestra la desviación estándar / Average percentage of growth for *Isochrysis galbana* in elutriates of sediments and controls. CIMAR 13, November 2007. Line on bar shows the standard deviation

El crecimiento observado en los ensayos, puede ser atribuido a la presencia de nutrientes en los lixiviados, los cuales se habrían liberado durante su preparación desde los sedimentos. Estos nutrientes habrían estimulado el crecimiento de las microalgas, sumado a la ausencia de tóxicos, lo que se confirma al observar que ningún cultivo presentó menor densidad celular que los controles. La liberación de nutrientes se atribuye a cambios locales, que podrían estar generando un desbalance en el contenido de fósforo y/o nitrógeno.

Una condición semejante, con incrementos en la densidad celular de las muestras respecto de los controles, se observó en los ensayos realizados con sedimentos recolectados en el sector central en fiordos y canales del Mar Interior de Chiloé, durante la Campaña CIMAR 10 Fiordos (Rudolph *et al.* 2007) y la Campaña CIMAR 11 Fiordos (Rudolph *et al.* 2009). En cambio, una situación diferente se observó con las muestras de sedimentos recolectadas en sectores costeros cercanos a centros de cultivo en el Mar Interior de Chiloé, sedimentos en su mayoría anóxicos, en que además de no observarse crecimiento de los ensayos con microalgas se observó toxicidad (Rudolph *et al.* 2009).

La calidad ecotoxicológica de los sedimentos estudiados mediante las prueba de fecundación con *Arbacia*

spatuligera, al igual que las pruebas de supervivencia con *Ampelisca araucana* y *Tisbe longicornis*, indican que en el sedimento de las localidades estudiadas no se detecta la presencia de tóxicos biodisponibles. Los ensayos con microalgas no evidencian problemas de toxicidad e incrementaron su crecimiento, sugiriendo la acumulación de sedimentos ricos en nutrientes. Esto último, estaría indicando el paso de un sistema oligotrófico a un sistema mesotrófico a futuro. Las condiciones informadas para el área, *i.e.*, saturación de oxígeno en la capa superficial y la ausencia de anoxia en la capa profunda (Silva *et al.* 1997, Guzmán & Silva 2002, Silva & Guzmán 2006), confirman que las localidades estudiadas, se comportan aún como un sistema poco alterado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dirección de Investigación de la UCSC; al Comité Oceanográfico Nacional por el financiamiento de esta investigación a través del Proyecto CONA 13F 07-03. A la Srta. Emma Cascales (UCSC) por la toma de muestras durante el Crucero y al Prof. Pablo Venegas (Laboratorio de Acuicultura, UCSC) por permitirnos trabajar en su laboratorio con condiciones reguladas de temperatura.

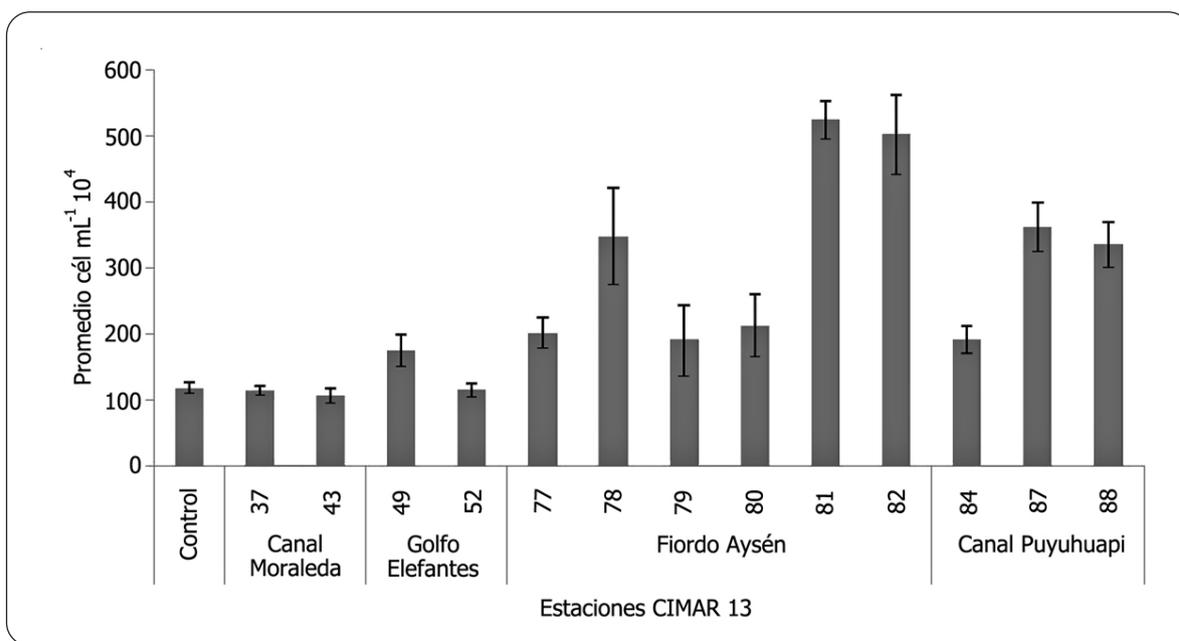


Figura 3. Porcentaje de crecimiento promedio de *Dunaliella salina* en elutriados de sedimentos y controles. Campaña CIMAR 13, noviembre 2007. Línea sobre cada barra muestra la desviación estándar / Average percentage of growth for *Dunaliella salina* in elutriates of sediments and control. CIMAR 13, November 2007. Line on each bar shows the standard deviation

LITERATURA CITADA

- Aguirre-Martínez G, A Rudolph, R Ahumada, R Loyola & V Medina. 2009.** Toxicidad no específica en sedimentos portuarios, una aproximación al contenido de contaminantes críticos. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 44(3): 725-735.
- Altamirano-Chovar C, A Rudolph & R Sepúlveda. 2006.** Differential sensitivity to varying degrees of human influence in juvenile *Semimytilus algosus* (Gould, 1950) (Mollusca: Mytilidae): From four coastal sites in south-central Chile. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology* 77: 171-178.
- Choueri RB, A Cesar, DMS Abessa, RJ Torres, I Riba, CDS Pereira, MRL Nascimento, RD Morais, AA Mozeto & TA del Valls. 2010.** Harmonised framework for ecological risk assessment of sediments from ports and estuarine zones of North and South Atlantic. *Ecotoxicology* 19(4): 593-825.
- Cifuentes A, J Silva, E Bay-Schmith & A Larrain. 1998.** Selección de cepas de microalgas para ser utilizadas en bioensayos de toxicidad. *Gayana Oceanológica* 61(1-2): 1-9.
- Dinnel PA & QJ Strober. 1985.** Methodology and analysis of sea urchin embryo bioassays. Fisheries Research Institute. University of Washington, Seattle, Circular 85: 1-319.
- Finney DJ. 1971.** Probit analysis, 333 pp. Cambridge University Press, Cambridge.
- Fuentes-Ríos D, R Orrego, A Rudolph, G Mendoza, JF Gavilán & R Barra. 2005.** EROD activity and biliary fluorescence in *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848): Biomarkers of PAH exposure in coastal environments of the Pacific Ocean. *Chemosphere* 61: 192-199.
- Guzmán D & N Silva. 2002.** Caracterización física y química y masas de agua en los canales australes de Chile entre Boca del Guafo y Golfo Elefantes (Crucero CIMAR Fiordo 4). *Ciencia y Tecnología del Mar* 25(2): 45-76.
- Larraín A, E Soto, J Silva & E Bay-Schmith. 1998a.** Sensibility of meiofaunal copepod *Tisbe longicornis* to $K_2Cr_2O_7$ under varying temperature regimes. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 61: 391-396
- Larraín A, E Soto & E Bay-Schmith. 1998b.** Assessment of sediment in San Vicente Bay, Central Chile, using the amphipod *Ampelisca araucana*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 61: 363-369.
- Pineda V. 2009.** Granulometría y geoquímica de los sedimentos marinos en el área comprendida entre el Seno Reloncaví y Golfo Corcovado, Chile. *Ciencia y Tecnología del Mar* 32(1): 27-47.
- Rudolph A, G Aguirre, J Moscoso, N Silva & R Ahumada. 2007.** Sediment quality between Reloncaví Gulf and Corcovado Gulf (41.5-43°S) based on toxicity tests. *Investigaciones Marinas* 35(2): 53-61.
- Rudolph A, P Medina, C Urrutía & R Ahumada. 2009.** Ecotoxicological sediment evaluations in marine aquaculture areas of Chile. *Environmental Monitoring and Assessment* 155: 419-429.
- Rudolph A, P Medina, V Novoa, R Ahumada & I Cortés. 2010.** Calidad ecotoxicológica de sedimentos en sectores del Mar Interior de Chiloé, Campaña CIMAR 12 Fiordos. *Ciencia y Tecnología del Mar* 33(1): 17-29.
- Sánchez-Bayo F. 2009.** From simple toxicological models to prediction of toxic effects in time. *Ecotoxicology* 18: 343-354.
- Silva N & D Guzmán. 2006.** Condiciones oceanográficas, físicas y químicas, entre boca del Guafo y fiordo Aysén (Crucero Cimar 7 Fiordos). *Ciencia y Tecnología del Mar* 29(1): 25-44.
- Silva N, C Calvete & H Sievers. 1997.** Características oceanográficas físicas y químicas de canales australes chilenos entre Puerto Montt y laguna San Rafael. *Ciencia y Tecnología del Mar* 20: 23-106.
- Silva J, C Fuentealba, E Bay-Schmith & A Larrain. 2007.** Estandarización del bioensayo de toxicidad aguada con *Diplodon chilensis* usando un tóxico de referencia. *Gayana* 71(2): 135-141.
- Soto E, E Larrain & E Bay-Schmith. 2000.** Sensitivity of *Ampelisca araucana* juveniles (Crustacea: Amphipoda) to organic and inorganic toxicants in test of acute toxicity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 64: 574-578.
- USEPA. 1988.** Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms. Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C. 206460. EPA/600/4-87-028. [en línea] < <http://www.epa.gov/eerd/westmethman.htm>>
- Valle-Levinson A, M Cáceres, HH Sepúlveda & K Holderied. 2002.** Flow patterns in the channels associated to the mouth of Aysén sound. *Ciencia y Tecnología del Mar* 25: 5-16.
- Valle-Levinson A, N Sarkar, R Sanay, D Soto & J León. 2007.** Spatial structure of hydrography and flow in a Chilean fjord, estuario Reloncavi. *Estuaries and Coasts* 30(1): 113-126.
- Wania F & D Mackay. 1996.** Tracking the distribution of persistent organic pollutants. *Environmental Science & Technology* 30: 390-396.
- Zúñiga M. 1999.** Evaluación de la calidad acuática de bahía San Jorge a través de ensayos de toxicidad crónica con gametos del erizo de mar *Arbacia spatuligera*. *Ciencia y Tecnología del Mar* 22: 59-74.

Recibido el 27 de mayo de 2010 y aceptado el 28 de octubre de 2010