

TESIS DOCTORALES

ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA DE
CHIRONOMUS RIPARIUS EXPUESTO A
SUSTANCIAS QUE CONTAMINAN EL
MEDIO AMBIENTE

El desarrollo industrial de las últimas décadas ha provocado un aumento de las sustancias químicas vertidas al medio ambiente, surgiendo la necesidad de evaluar su impacto en todos los niveles, siendo de especial preocupación los ecosistemas acuáticos. Además de los conocidos análisis físico-químicos, que ofrecen información instantánea del estado del medio acuático, es necesaria la utilización de los indicadores biológicos o bioindicadores, que aportan una información complementaria de suma relevancia.

Chironomus riparius es uno de estos bioindicadores, un insecto díptero, organismo de referencia utilizado habitualmente en ensayos de toxicidad acuática. Entre estos ensayos el análisis de supervivencia constituye una de las pruebas fundamentales, ya sea como objetivo principal, o como paso previo a la elección de concentraciones subletales para otro tipo de estudios a nivel molecular, bioquímico o celular. En este segundo caso es habitual recurrir a técnicas estadísticas específicas y pruebas muy sencillas como el conocido método probit, mediante las cuales se obtiene la concentración letal a tiempo fijo o LC_x, que representa la concentración necesaria para que muera el x% de los individuos en el tiempo deseado.

Por otro lado, durante las últimas décadas se han estudiado modelos matemáticos más complejos que intentan relacionar la supervivencia con parámetros como la concentración interna o las tasas de absorción y eliminación. Recientemente se ha tratado de integrar los distintos modelos en un único Modelo General Unificado de Umbral de Supervivencia, GUTS (*General Unified Threshold Model of Survival*) con resultados prometedores, aunque aún son necesarios más estudios.

En esta tesis se analizó la supervivencia de larvas de cuarto estadio de *C. riparius* frente dos derivados del fenol y dos metales: bisfenol A (BPA), triclosán (TCS),

cadmio (Cd) y cobre (Cu) por separado, así como la mezcla de ambos metales. El estudio de los compuestos seleccionados se llevó a cabo mediante exposiciones a diferentes concentraciones de cada sustancia química a estudiar y a una mezcla de dos de ellas, y se midió la supervivencia respecto al tiempo, con una duración máxima de los experimentos de 96 horas. Posteriormente con los datos obtenidos se aplicó la teoría GUTS a cada sustancia en sus dos versiones simplificadas:

- Muerte Estocástica (SD): hay una concentración de no efecto común a todas las larvas. Cuando se supera esta concentración aumenta la probabilidad de morir, pero en última instancia es un proceso aleatorio.
- Tolerancia Individual (IT): cada individuo posee su propia concentración umbral de tolerancia, a partir de la cual muere irremediamente. Este umbral de concentración se distribuye en la población según diferentes funciones conocidas en estadística, como la distribución normal o la exponencial, entre otras.

La diferencia entre ambos planteamientos se hace patente ante una exposición a pulsos (Figura 1). Según el modelo IT si un primer pulso de tóxico aniquila a la mitad de los individuos, la otra mitad superviviente posee un umbral de tolerancia superior al administrado, de modo que un segundo pulso de idéntica concentración no causará más bajas. En cambio según el modelo SD la supervivencia es aleatoria (aunque su probabilidad disminuye con el aumento de la concentración), los supervivientes al primer pulso simplemente han sido "más afortunados", y un segundo pulso puede ocasionar nuevas muertes.

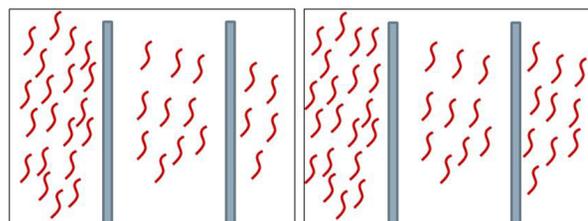


Figura 1. Izqda. el modelo SD: cada pulso (representado como barra azul) elimina la mitad de individuos cada vez. Dcha. el modelo IT: el primer pulso elimina los individuos más sensibles, un segundo pulso no produciría más muertes.

Se estudió el modelo que mejor ajustaba a los datos de cada sustancia química, comparando e interpretando los resultados. En todos los casos el mejor ajuste se obtuvo con modelos de la hipótesis de tolerancia individual, todos ellos de cuatro parámetros. Así mismo se pudo comprobar que la toxicidad del cadmio (Cd) y del cobre (Cu) es menor cuando se utilizan de forma conjunta, revelando algún tipo de interacción o competición entre ellos, pero se requieren estudios más detallados para analizar estos efectos.

Por medio de los modelos escogidos para cada sustancia química se hallaron las concentraciones letales (LCx) a 24 y 48 horas y se compararon con los resultados obtenidos por el método probit, poniendo de manifiesto las limitaciones de este último. Los modelos GUTS corresponden a superficies en las que se representa la superficie en función tanto del tiempo como de la concentración (Figura 2), mientras que en el modelo probit se representan curvas de supervivencia frente a concentración a tiempos prefijados. Esto ocasiona una mayor flexibilidad de los modelos GUTS, que permiten calcular con gran facilidad las LCx a cualquier tiempo, aunque no haya datos experimentales de ese instante concreto.

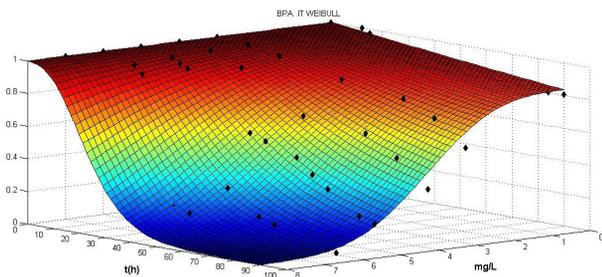


Figura 2. Superficie de supervivencia en función del tiempo y la concentración de BPA. Los puntos en negro representan los datos experimentales.

Por último, se estudiaron las posibilidades de la simulación en el campo de la ecotoxicología, aplicando los resultados obtenidos con la teoría GUTS para el BPA, a una exposición en condiciones de laboratorio y a dos vertidos en río (Figura 3). La simulación de la exposición por pulsos ha demostrado la utilidad de esta técnica en el análisis de ensayos en condiciones de laboratorio. Permite la realización virtual de infinidad de ensayos de

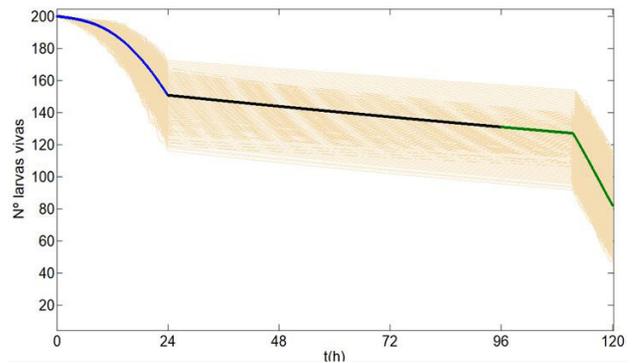


Figura 3. Supervivencia en función del tiempo de 200 larvas sometidas a dos pulsos de 5 y 6 mg/L de BPA durante 24h, con intervalo de recuperación entre ambos. En azul, negro y verde se muestra la supervivencia media en las tres fases. En sepia se representa la región de confianza.

ecotoxicología variando las condiciones de concentración y/o duración de los pulsos, permitiendo un óptimo diseño de ensayos de tipo biomolecular sin ningún sacrificio animal. Puesto que uno de los objetivos primordiales de este tipo de ensayos de ecotoxicología es la prevención de riesgos mediante una adecuada legislación ambiental, las simulaciones permiten así mismo estudiar la repercusión en la supervivencia de distintos patrones de exposición, así como los tiempos de recuperación necesarios.

Se realizó también la simulación de un vertido puntual de BPA y un vertido continuo en sendos ríos ficticios, obteniendo para cada caso un patrón de supervivencia espacio-temporal, demostrando el enorme potencial de las simulaciones en esta área. Sin embargo también se apreció la complejidad de realizar simulaciones en escenarios reales, ya que intervienen infinidad de factores como el propio río (cauce, caudal, sedimentos, etc.), la variabilidad de la densidad larvaria, el ciclo vital completo de *C. riparius*, la interrelación entre las distintas especies del ecosistema acuático, etc. La simulación en escenario real es un área con gran futuro en ecotoxicología, aunque todavía se están dando los primeros pasos, necesitando una amplia investigación multidisciplinar.

Miren Josune Urien Crespo
Dpto. de Física Matemática y de Fluidos