

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL₅₀₋₉₆) DE SELENIO Y BORO
SOBRE ALEVINOS DE TRUCHA ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)
MEDIANTE BIOENSAYOS**

**YULIE ANDREA RIVERA HOYOS
DIANA ALEXANDRA MOLINA TRUJILLO**

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
BOGOTÁ
2010**

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL₅₀₋₉₆) DE SELENIO Y BORO
SOBRE ALEVINOS DE TRUCHA ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)
MEDIANTE BIOENSAYOS**

**YULIE ANDREA RIVERA HOYOS
DIANA ALEXANDRA MOLINA TRUJILLO**

Tesis para optar al grado de Ingeniero Ambiental y Sanitario

**Director
PEDRO MIGUEL ESCOBAR MALAVER
Químico Industrial
Licenciado en Química y Biología**

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
BOGOTÁ
2010**

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Nota de aceptación

Firma Director

Firma Jurado 1

Firma Jurado 2

Bogotá, 2011



AGRADECIMIENTOS

Las autoras expresan sus agradecimientos a:

Ante todo queremos agradecerle a Dios por darnos las fuerzas necesarias para cumplir con todas nuestras metas y poder culminar con nuestros estudios.

A nuestros padres ya que sin el apoyo incondicional de ellos no hubiéramos podido ser las mujeres que hoy en día somos.

A nuestro estimado director Pedro Miguel Escobar Malaver por permitirnos realizar este proyecto de investigación, por sus excelentes aportes, sugerencias, paciencia, tolerancia, colaboración y acompañamiento durante esta etapa.

A los laboratorios de Bioensayos, Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle, especialmente a los monitores y al Ingeniero Oscar Fernando Contenido por su colaboración durante la realización del proyecto de grado.

A los profesores que participaron en la evaluación y aprobación de la investigación por su tiempo y dedicación.

A todas las personas que en algún momento participaron en la realización de este proyecto y nos demostraron apoyo incondicional.



DEDICATORIA

*TE DEDICO ESTO CON TODO MI CORAZÓN POR QUE SIN TU APOYO,
COMPRENSIÓN Y TOLERANCIA JAMÁS LO HABRÍA LOGRADO A
TÍ MAMITA LINDA TE DEBO TODO LO QUE SOY, NO ME
ALCANZAN LAS PALABRAS PARA DARTÉ LAS
GRACIAS POR TODO.*

*A MI PAPA, MI HERMANO, MIS FAMILIARES, MIS AMIGOS, MIS
COMPAÑEROS Y A TODAS LAS PERSONAS QUE ME
APOYARON INCONDICIONALMENTE.*

YULIE ANDREA RIVERA HOYOS



DEDICATORIA

PARA MIS PADRES POR CONVERTIRME EN LA MUJER QUE SOY, CON BASES MORALES Y ÉTICAS SOLIDAS; POR SUS ESFUERZOS; POR DARMÉ UNA CARRERA Y CREER EN MÍ.

A MIS HERMANOS, ANDREA, NATA Y JORGE GRACIAS POR ESTAR CONMIGO Y APOYARME SIEMPRE, LOS QUIERO MUCHO.

A MIS AMIGOS DE ESTUDIO Y FARRA, POR LOS MOMENTOS INOLVIDABLES Y SU COLABORACIÓN DURANTE EN EL TRANCURSO DE LA CARRERA.

Y A LAS PERSONAS QUE AUNQUE NO SEAN DE LA U ME APOYAN Y ESTÁN AHÍ SIEMPRE.

DIANA ALEXANDRA MOLINA TRUJILLO



TABLA DE CONTENIDO

1. OBJETIVOS.....	21
1.1 OBJETIVO GENERAL	21
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
2. MARCO TEÓRICO	22
2.1 TRUCHA ARCOIRIS	22
2.1.1 Anatomo-fisiología	22
2.1.2 Ecología de la Trucha Arco Iris	26
2.1.3 Desarrollo.....	27
2.1.4 Alimentación	28
2.1.5 Tolerancia a diferentes variables ambientales.....	29
2.2 BIOENSAYO	31
2.2.1 Tipos de bioensayo.....	31
2.2.2 Toxicidad.....	33
2.2.3 Índices de toxicidad	33
2.2.4 Pruebas de toxicidad	34
2.2.5 Tóxicos de referencia	35
2.2.6 Cartas de control de calidad.....	35
2.2.7 Replicabilidad y sensibilidad.....	36
2.3 SUSTANCIAS DE PRUEBA.....	37
2.3.1 Boro (B).....	37
2.3.2 Selenio (Se)	41
2.4 MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA ANÁLISIS DE PRUEBAS DE TOXICIDAD.....	46
2.4.1 Método Probit (Paramétrico)	47
2.4.2 Método Litchfield – Wilcoxon (Gráfico)	49
2.4.3 Método gráfico.....	51
2.4.4 Análisis de varianza (ANOVA)	51
2.5 INDUSTRIA	52
3. METODOLOGÍA	56



3.1	FASE I. ACONDICIONAMIENTO	58
3.1.1	Recinto experimental.....	58
3.1.2	Adquisición y transporte de alevinos.....	59
3.1.3	Preparación y mantenimiento de acuarios	59
3.1.4	Aclimatación de los alevinos	60
3.1.5	Alimentación	61
3.2	FASE II. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD	62
3.2.1	Preparación del agua de dilución	62
3.2.2	Preparación de las soluciones con dicromato de potasio	62
3.2.3	Montaje del ensayo toxicológico	63
3.2.4	Pruebas con dicromato de potasio	64
3.3	FASE III. PRUEBAS PRELIMINARES Y DEFINITIVAS.....	65
3.3.1	Preparación del agua de dilución	65
3.3.2	Preparación de las soluciones con Boro y Selenio	65
3.3.3	Pruebas con boro y selenio	66
3.3.4	Determinaciones fisicoquímicas del vertimiento.....	67
3.4	FASE IV. RESULTADOS.....	68
3.4.1	Aceptabilidad de los resultados	68
3.4.2	Determinación de la CL_{50-96}	68
4.	OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	70
4.1	PRUEBAS TOXICOLÓGICAS CON DICROMATO DE POTASIO	70
4.1.1	Análisis Probit para las pruebas de sensibilidad con dicromato de potasio	70
4.1.2	Análisis ANOVA para las pruebas de sensibilidad con dicromato de potasio	75
4.2	PRUEBAS DE TOXICIDAD CON BORO	77
4.2.1	Análisis Probit para las pruebas de toxicidad con boro (B).....	77
4.2.2	Análisis ANOVA para las pruebas de toxicidad con boro (B)	80
4.3	PRUEBAS DE TOXICIDAD CON SELENIO.....	81
4.3.1	Análisis Probit para las pruebas de toxicidad con selenio (Se)	81
4.3.2	Análisis ANOVA para las pruebas de toxicidad con selenio (Se)	86
4.4	PRUEBAS DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO INDUSTRIAL.....	86

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



4.4.1	Análisis fisicoquímico del vertimiento.....	87
4.4.2	Determinación del porcentaje letal del vertimiento.....	88
4.4.3	Análisis Probit para las pruebas de toxicidad con el vertimiento industrial.....	90
4.4.4	Análisis ANOVA para las pruebas de toxicidad con el vertimiento industrial	90
5.	OBTENCIÓN DE LA CARGA TÓXICA E ÍNDICE TOXICOLÓGICO	93
5.1	Obtención carga toxicológica del vertimiento	94
5.2	Obtención del índice toxicológico del vertimiento	94
6.	CONCLUSIONES.....	95
7.	RECOMENDACIONES.....	96
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	97



TABLA DE DIAGRAMAS

Diagrama 1: Metodología método grafico.....	49
Diagrama 2: Metodología método grafico.....	50
Diagrama 3: Principios del modelo ANOVA.....	52
Diagrama 4: Metodología para la determinación del CL_{50} de Boro y Selenio	57
Diagrama 5: Fase I.....	61
Diagrama 6: Fase II.....	64
Diagrama 7: Fase III.....	66
Diagrama 8: Fase III.....	67
Diagrama 9: Fase IV	69



TABLA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Sistema respiratorio de un pez.....	23
Ilustración 2: Ciclo de vida de la Trucha Arco Iris	28
Ilustración 3: Descripción de producto.....	54
Ilustración 4: Esquema Laboratorio de Bioensayos de la Universidad de La Salle	58
Ilustración 5: Preparación de acuarios	59
Ilustración 6: Alevinos de Trucha Arco Iris	60
Ilustración 7: Tanque almacenamiento de agua	62
Ilustración 8: Montaje ensayo toxicológico.....	63



TABLA DE TABLAS

Tabla 1: Órganos sensoriales de la Trucha Arcoíris	25
Tabla 2: Relación entre pH y Amoniaco	31
Tabla 3: Toxicidad del borato para las bacterias, protozoos y algas	39
Tabla 4 Niveles de toxicidad aguda selenio especies de peces	44
Tabla 5: Colorantes y su composición	53
Tabla 6: Parámetros de control.....	60
Tabla 7: Carta de control pruebas de Sensibilidad.....	71
Tabla 8: Resultados de pruebas de sensibilidad	71
Tabla 9: Resultados de sensibilidad en investigaciones de La Universidad de la Salle	72
Tabla 10: Resultados de sensibilidad en investigaciones Internacionales	73
Tabla 11: Resultados Análisis de varianza ANOVA para las pruebas de sensibilidad	76
Tabla 12: Carta de control pruebas preliminares con boro	77
Tabla 13: Carta de control pruebas definitivas con boro	77
Tabla 14: Resultados de la Concentración letal media con boro	78
Tabla 15: Resultados Análisis de varianza ANOVA para dicromato de potasio.....	80
Tabla 16: Comparación de resultados.....	80
Tabla 17: Carta de control primeras pruebas preliminares con selenio.....	82
Tabla 18: Carta de control segundas pruebas preliminares con selenio	82
Tabla 19: Carta de control pruebas definitivas con selenio	82
Tabla 20: Resultados pruebas con selenio.....	83
Tabla 21: Resultados sobre toxicidad del Selenio Internacionales.....	83
Tabla 22: Resultados análisis Anova para selenio	86
Tabla 23: Resultados parámetros In situ.....	87
Tabla 24: Recolección de muestras	87
Tabla 25: Resultados del análisis fisicoquímico de la muestra de agua residual industrial ..	88
Tabla 26: Resultados prueba preliminar 1 vertimiento.....	89
Tabla 27: Resultados prueba preliminar 2 vertimiento.....	89
Tabla 28 Prueba vertimiento	89
Tabla 29: Carta de control pruebas definitivas con vertimiento.....	90
Tabla 30: Resultados pruebas con selenio.....	90
Tabla 31: Resultados análisis Anova para el vertimiento	91
Tabla 32: Rangos Índice Toxicológico.....	94

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



TABLA DE GRAFICAS

Gráfica 1: Concentración letal media de sensibilidad con dicromato de potasio.....	74
Gráfica 2: Concentración Letal Media de boro	79
Gráfica 3: Concentración Letal Media de selenio	85
Gráfica 4: Concentración Letal Media del vertimiento.....	92



LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. Cartas de control para las pruebas de sensibilidad con Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$).

ANEXO B. Obtención de la CL_{50-96} con Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) por el Método Probit.

ANEXO C. Obtención de la CL_{50-96} con Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$)

ANEXO D. Cartas de control para las pruebas de toxicidad con Boro.

ANEXO E. Obtención de la CL_{50-96} con Boro por el Método Probit.

ANEXO F. Obtención de la CL_{50-96} con Boro por Anova.

ANEXO G. Cartas de control para las pruebas de toxicidad con Selenio (Se)

ANEXO H. Obtención de la CL_{50-96} con Selenio por el Método Probit

ANEXO I. Obtención de la CL_{50-96} con selenio por Anova.

ANEXO J. Cartas de control para las pruebas de toxicidad con vertimiento

ANEXO K. Obtención de la CL_{50-96} del vertimiento por el Método Probit

ANEXO L. Obtención de la CL_{50-96} del vertimiento por Anova.

ANEXO M. Protocolo Lb01. Aclimatación de la Trucha arco iris

ANEXO N. Protocolo Lb02. Pruebas de toxicidad sobre Trucha arco iris

ANEXO O. Protocolo Lb03. Análisis de resultados, Método Probit

ANEXO P. Análisis de varianza, Método Anova



GLOSARIO

ACLIMATACIÓN. Adaptación de un organismo de prueba a diversas condiciones ambientales, tales como temperatura, luz o diferentes cantidades de agua.

BENTOPELAGICOS. Peces que se alimentan de organismos bentónicos y nadadores libres.

BIOENSAYOS DE TOXICIDAD: permiten evaluar el grado de afectación que una sustancia química tiene en organismos vivos y éstos pueden ser agudos o crónicos.

CARCINOGÉNICO. Cualquier compuesto químico que puede originar la formación de lesiones cancerosas.

CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL50). Concentración del compuesto tóxico que afecta al 50% de la población de la especie modelo, causando su muerte, bajo condiciones de prueba en un tiempo determinado.

CONTAMINANTE. Sustancia introducida en el ambiente por actividades humanas, que produce efectos adversos sobre organismos individuales vivos y en el ecosistema.

CUERPOS DE AGUA. Masa o extensión de agua como un lago, mar u océano que cubre parte de la tierra. Algunos cuerpos de agua son artificiales, como estanques, pero la mayoría son naturales. Pueden contener agua salada o agua dulce.

DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$). Se trata de una sustancia de color intenso anaranjado; es un oxidante fuerte. En contacto con sustancias orgánicas puede provocar incendios.

DOSIS. Contenido de principio activo de un medicamento, expresado en cantidad por unidad de toma, por unidad de volumen o de peso, en función de la presentación, que se administrará de una vez.



ECOTOXICOLOGÍA. Es el estudio de la relación dosis o concentración / efecto de tóxicos liberados al ambiente sobre los sistemas bióticos incluyendo los niveles de organización inferiores y superiores al nivel de organismos.

ENSAYO DEFINITIVO: prueba diseñada para establecer la concentración a la cual se presenta el efecto final establecido. Los periodos de exposición son mayores que las pruebas preliminares y las de intervalo, se utilizan múltiples concentraciones a estrechos intervalos y múltiples réplicas.

ENSAYO PRELIMINAR: (Screrning): prueba para determinarse si se produce un impacto. Estas pruebas se diseñan utilizando una concentración, múltiples réplicas y una exposición de 24 a 96 horas.

INPRINTED. Es un período fundamental donde el alevino de 6 a 8 cm. adquiere, a través de su dotación genética, las características del medio acuoso que lo rodea llevándolas consigo toda su vida

NOEC. (Non Observed Adverse Effects Level) es el nivel de exposición experimental que representa el máximo nivel probado al cual no se observan efectos tóxicos o nocivos.

PELÁGICOS. Zona marina que abarca tanto la superficie como el seno del mar, excluyendo el fondo (bentos).

POIQUILOTERMO. Organismos cuya temperatura corporal está influida por el medio que los rodea.

TÓXICO. Agente capaz de producir un efecto adverso, dañando la estructura y el funcionamiento del ecosistema.

TRUCHA ARCO IRIS. Salmónido que se caracteriza por presentar cuerpo alargado, fusiforme y cabeza relativamente pequeña que termina en una boca grande, puntiaguda, hendida hacia

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



el nivel de los ojos y con una fila de dientes fuertes en cada una de las mandíbulas, que les permite aprisionar las presas capturadas.



RESUMEN

A través del tiempo el ser humano ha desarrollado diferentes actividades en las cuales ha generado impactos negativos sobre el ambiente, para lo cual se han implementado diferentes normas que permiten el control y prevención de los mismos. En este caso, el presente investigación busca aportar datos de concentración letal media de Selenio y Boro ya que son sustancias de importancia sanitaria.

El método utilizado para la investigación son los bioensayos de toxicidad, sobre alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) con un periodo de exposición de 96 horas, a diferentes concentraciones y porcentajes de dilución, permitiendo determinar la dosis letal de Selenio (4,5 mg Se/L) y Boro (105,19 mg B/L) que produce la muerte al (50%) cincuenta por ciento de los organismos, como lo estipula la norma. Datos que fueron validados por medio del software Probit y el análisis de varianza (ANOVA). Siguiendo los protocolos establecidos. Para cada ensayo realizado se utilizaron 24 peceras con cinco alevinos cada una, en la cual se manejaron cinco concentraciones por cuádruplicado.

Además, se determinó que porcentaje de vertimiento de la industria de pinturas y barnices causa la muerte al 50% de los alevinos, en el cual el valor obtenido fue de 0,38%; el índice de toxicidad (2,8), el cual lo clasifica como una toxicidad despreciable.



ABSTRACT

Over time humans have developed various activities which has led to negative impacts on the environment, for which different standards have been implemented that allow the control and prevention of them. In this case, this research aims to provide data on median lethal concentrations of selenium and boron as they are substances of health significance.

The method used for research are toxicity bioassays on rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*) with an exposure period of 96 hours at different concentrations and dilution rates, allowing to determine the lethal dose of selenium (4.5 mg Se / L) and boron (B 105.19 mg / L) that causes death in (50%) fifty percent of the agencies, as required by rule. Data were validated by the Probit software and analysis of variance (ANOVA). Following established protocols. For each test carried out 24 tanks were used with five fingerlings each, which were handled five concentrations in quadruplicate.

In addition, we determined what percentage of the dumping of industrial paints and varnishes kills 50% of the fry, in which the value obtained was 0.38%, the toxicity index (2.8), which classifies it as a negligible toxicity.



INTRODUCCIÓN

En Colombia el acelerado desarrollo económico, industrial y tecnológico ha generado en la humanidad dependencia en el uso de sustancias no compatibles con el medio ambiente. El problema ambiental y toxicológico se fundamenta en el modo inadecuado como se producen, se usan las sustancias químicas y en la forma como se disponen sus residuos.

Actualmente las industrias que se dedican a la fabricación de pinturas, tintas, barnices, esmaltes, equipos para fotografía, textiles, galvanotecnias y metalúrgicas hacen que estos elementos químicos como el Boro y el Selenio se usen con más frecuencia.

Por esta razón se realizan las evaluaciones toxicológicas ya que integran diferentes niveles poblacionales que permiten identificar los elementos biológicos en riesgo; también los ensayos de toxicidad deben ser considerados indispensables en el control de la contaminación, ya que sirven para reconocer y evaluar los efectos sobre la biota, debido a que se fundamentan en la utilización de organismos vivos que son los directamente afectados por los impactos, cambios y desequilibrios que ocurren en los ecosistemas acuáticos; teniendo en cuenta lo anterior se puede deducir que uno de los principales problemas del recurso hídrico se debe a las actividades humanas las cuales descargan contaminantes al agua sin pensar en los daños a corto y largo plazo que están causando al medio ambiente.

En esta investigación por medio de bioensayos, se determina la concentración letal media de (CL_{50-96}) de Boro (B), Selenio (Se) y un vertimiento industrial de pinturas y barnices, utilizando alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*),.

Los resultados obtenidos serán aportados al macro proyecto adelantado por el Químico Pedro Miguel Escobar.

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos de toxicidad.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ♣ Determinar la sensibilidad de los alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) con dicromato de potasio.
- ♣ Determinar la Concentración Letal (CL_{50-96}) de Selenio (Se) y Boro (B) para alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) siguiendo protocolos establecidos.
- ♣ Determinar la Concentración Letal (CL_{50-96}) del Selenio y/o Boro para alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*), en un vertimiento industrial.
- ♣ Determinar el índice de efecto tóxico potencial de vertimientos que contengan Selenio y/o Boro en una industria tipo.



2. MARCO TEÓRICO

2.1 TRUCHA ARCOIRIS

Este pez cuyo nombre científico es *Oncorhynchus mykiss*, pertenece al grupo de los salmónidos originarios de América del Norte; es una especie migratoria Eurihalina lo que significa que tiene ciclos biológicos tanto en el mar como en lugares de agua dulce, aunque presenta poblaciones que viven toda su vida en lagos, ríos y arroyos. Los alevinos más pequeños son bentopelagicos mientras que los juveniles de más edad se vuelven totalmente pelágicos. Su nombre hace es característica la coloración que posee, misma que varía en función del medio, de la talla, del sexo y del tipo de alimentación. La trucha arcoíris alcanza los 70 cm y un peso de 7 Kg aproximadamente. Es un pez que se destaca por una hermosa coloración y presenta el dorso oscuro con reflejos verde oliváceos, con pequeñas manchas negras extendiéndose hacia los flancos.

2.1.1 Anatomo-fisiología

2.1.1.1 Esqueleto.

Siendo un vertebrado la trucha arcoíris tiene columna vertebral y cráneo. La columna vertebral se extiende desde la cabeza hasta la aleta caudal y está compuesta por 29 segmentos y/o vértebras, las cuales se prolongan dorsalmente para formar las espinas neurales. En la región del tronco tienen apófisis laterales que dan origen a las costillas que son estructuras cartilaginosas, ubicadas entre los segmentos musculares y minúsculos huesecillos en forma de “Y”.

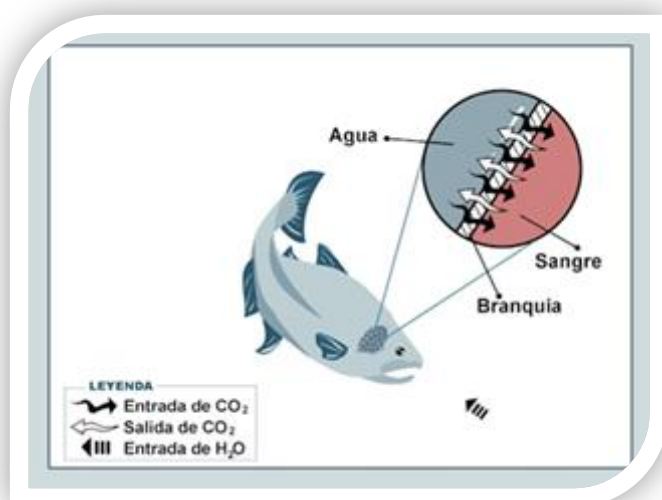
2.1.1.2 Sistema respiratorio

Los peces respiran mediante branquias o agallas, están formadas por una especie de láminas de color rojizo debido a la multitud de vasos sanguíneos que contienen; se sitúan a ambos lados de la cabeza y es el órgano por el cual se produce el intercambio gaseoso.

Debido a la gran fragilidad de las branquias están protegidas por el opérculo (Aleta de hueso duro que cubre y protege).

El proceso respiratorio empieza cuando el pez abre la boca para tragar agua, luego la empuja hacia las branquias que se encargan de atrapar el oxígeno, posteriormente este pasa a la sangre y los vasos sanguíneos lo transportan por todo el cuerpo. El resultado es que agua entra por la boca y sale por el opérculo pasando a través de las branquias, donde se produce el intercambio gaseoso, donde el dióxido de carbono es expulsado.

Ilustración 1: Sistema respiratorio de un pez



2.1.1.3 Sistema tegumentario

La piel de los salmónidos es esencial para la impermeabilidad del pez, al mismo tiempo este proporciona protección por medio de las escamas, la epidermis es un delicado revestimiento transparente, situado sobre las escamas y posee pequeñas glándulas; dichas glándulas segregan un mucus viscoso, que sirve como revestimiento protector y anti infeccioso, debajo de la epidermis se encuentran las escamas, placas ovoides de sustancia ósea que se forman en pequeñas cavidades.



2.1.1.4 Sistema muscular

Los principales músculos natatorios se disponen en una serie de bloque, esta disposición determina una considerable fuerza de impulsión a la cola, las aletas se mueven mediante pequeños músculos independientes; además se caracterizan por poseer un pequeño apéndice en el dorso.

2.1.1.5 Sistema circulatorio

Es el sistema de transporte sanguíneo; el corazón es un órgano muscular que ocupa la zona de la base de la garganta; la sangre pasa del ventrículo triangular que proporciona la presión principal, al interior de un cono arterioso, blanco y de paredes elásticas, este es un regulador de la presión.

2.1.1.6 Sistema digestivo

Se inicia en la boca, que posee dientes para la captura; una vez ingerido el alimento desciende rápidamente por el esófago hasta el estómago, un órgano en forma de U que puede dilatarse fuertemente para contener grandes alimentos, en el esófago el alimento se desmenuza mediante la acción de ácido, enzimas digestivas y por la trituración de los músculos del esófago. Asociadas con el tracto digestivo hay dos glándulas muy importantes; una de ellas es el hígado, un órgano grande situado delante del estómago en donde las moléculas de los alimentos son traídas desde el intestino por la sangre para ser transformadas en proteínas, grasas y carbohidratos; la otra glándula digestiva es el páncreas la cual tiene dos funciones, la producción de las enzimas pancreáticas e insulina.

2.1.1.7 Sistema nervioso

El sistema nervioso refleja su conducta; este mediante su olfato regresa al río donde nació, caza mediante su vista y son organismos que viven casi enteramente de sus reflejos; además tienen una zona olfatoria bien desarrollada en la parte anterior del encéfalo, unida directamente a los orificios nasales.



A continuación se presenta de manera general los principales órganos sensoriales de la Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*).

Tabla 1: Órganos sensoriales de la Trucha Arcoíris

NOMBRE	CARACTERÍSTICAS
VISTA	Es el órgano sensorial más importante. Los ojos poseen una película fotoreceptiva, llamada retina, misma que se encuentra cubierta por unas estructuras llamadas "conos" y "bastones". Los bastones forman las imágenes en blanco y negro, además de percibir los detalles de baja resolución de los objetos, mientras que los conos, forman el color y perciben los detalles de alta resolución. El ojo de la trucha, puede detectar formas generales (silueta), tamaños relativos y una gama más o menos extensa de colores. Sus ojos son extremadamente sensibles al movimiento y al contraste; y se encuentran ubicados a los lados de la cabeza facilitando la detección de los depredadores en un amplio radio.
OÍDO	El oído de la trucha se encuentra completamente en el interior del cráneo conectado con el órgano del equilibrio. Gracias a las propiedades del agua como un gran medio de transmisión del sonido, hace que los salmónidos puedan oír sin necesidad de que el oído esté conectado con el medio exterior; así como este pez escucha los sonidos, también los emite.
OLFATO	La trucha posee dos orificios nasales en el morro, a través de los cuales posee un olfato muy fino y desarrollado. A ambos lados de la parte anterior de la cabeza se abren los orificios nasales, cada uno se comunica con una fosa nasal, cada orificio nasal está dividido por una membrana. El agua tiene en disolución multitud de sustancias, que gracias a los movimientos de natación y respiración pasan a través de dichos orificios, donde se estimula el epitelio olfativo, pasando este impulso al cerebro.



NOMBRE	CARACTERÍSTICAS
GUSTO	Estos peces son capaces de distinguir los cuatro sabores básicos; dulces, salados, ácidos y amargos. Se han encontrado células gustativas en la boca y sus alrededores aunque hay especies que tienen incluso en la piel y pueden percibir la composición química del agua. Esto es muy importante para los peces migradores como el salmón que sigue los gradientes de olor, reconociendo el de su río natal a donde se dirige para desovar.
LÍNEA LATERAL	Es un sentido exclusivo de los peces, son una serie de corpúsculos sensoriales dispuestos a lo largo del cuerpo y forman una línea visible sobre cada costado, con numerosas ramificaciones sobre la cabeza. Sirve para detectar pequeños cambios de la presión del agua causada por los objetos circundantes. La línea lateral reside en el sentido de la dirección, el cual permite conocer el origen de las ondas de choque producidas en el seno del agua; de este mismo modo los peces reciben el eco de sus propios movimientos y pueden situar los objetos inanimados. Es un sentido muy importante cuando el agua esta turbia y hay poca visibilidad.

Fuente: las autoras. 2010

2.1.2 Ecología de la Trucha Arco Iris

2.1.2.1 Hábitat

La trucha arco iris en su ambiente natural, es un pez que habita espacios acuáticos con aguas puras y cristalinas, con cauces que presentan marcados desniveles topográficos que originan rápidos, saltos y cascadas que son muy comunes en los ríos de alta montaña, son estos rápidos con una pronunciada velocidad de corriente y suelo pedregoso los más frecuentados



por las truchas. De manera que las truchas son peces nativos de regiones elevadas y montañosas donde existen aguas dulces, frías y claras.

2.1.3 Desarrollo

El desarrollo de la trucha arco iris ocurre en varias etapas que van desde ser alevinos hasta alcanzar la edad madura. Constantemente entre la especie existen luchas por la elección de las parejas, donde el macho busca el territorio para que la hembra elija en el, lo que será en definitiva "la cama de desove".

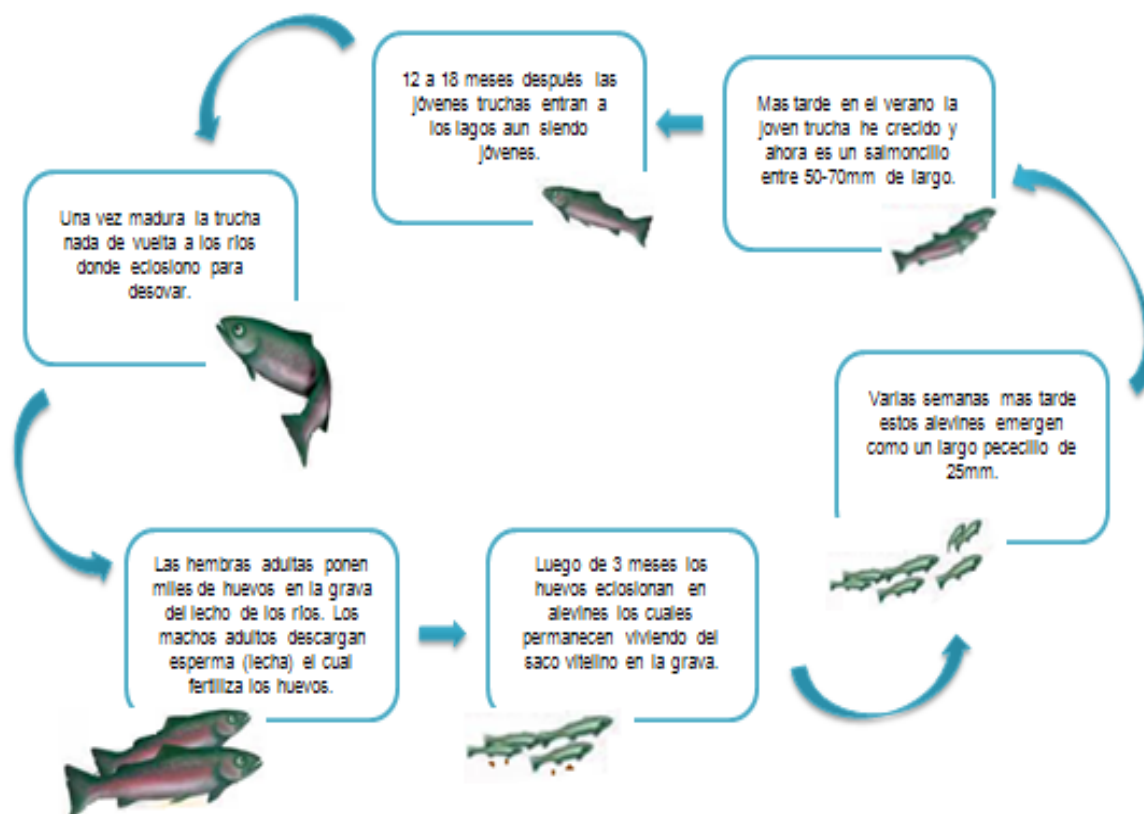
La trucha remueve el lecho del río con su aleta caudal logrando un pequeño pozo donde ovipone, al mismo tiempo el macho segrega el esperma que fecunda los huevos; finalmente la hembra se encarga de cubrir con suaves movimientos las ovas ya listas para comenzar a desarrollarse.

Al cabo de cierto tiempo (aprox. 90-100 días) el embrión ya desarrollado rompe la envoltura que lo contuvo y tenemos al alevino en sus primeros estados donde ya tiene movilidad propia y respiración branquial, el alevino no se desprende de su saco vitelino ya que este le servirá de alimentación. Una vez dejado el saco ya se alimenta por sí solo, adquiere forma y características propias de su especie. Imprinted es un período fundamental donde el alevino de 6 a 8 cm adquiere través de su dotación genética, las características del medio acuoso donde nació para regresar posteriormente en su etapa adulta para aparearse y recomenzar de nuevo el ciclo.

En estado natural solo conseguirán llegar a adultos muy pocos del total de huevos depositados; una hembra adulta ovipone aproximadamente de 1.000 a 1.500 huevos por kilo de su peso, sin embargo por factores externos a ellos solo logran nacer alrededor de un 7 % y de este porcentaje solo podrán llegar a ser reproductores 2 ejemplares de aquellos 1500 huevos originales.

Una característica muy peculiar de los salmónidos, es que sus órganos sexuales presentan, una cierta indiferenciación, es decir no es posible determinar microscópicamente si la glándula sexual de un ejemplar es testículo u ovario.

Ilustración 2: Ciclo de vida de la Trucha Arco Iris



Fuente: Adaptado de Tongariro National Trout Centre. [Disponible en internet] En línea: <http://www.taupofortomorrow.co.nz/fishery/trout.php>.

2.1.4 Alimentación

La trucha es un pez carnívoro que en la naturaleza se alimenta de las presas que captura vivas, siendo la mayoría de ellas organismos acuáticos y algunos terrestres, como son los insectos, moluscos, caracoles, cangrejos, gusanos, renacuajos y peces pequeños de la misma u otras especies. Las poblaciones oceánicas son vulnerables a los peces grandes, pinnípedos y Odontocetos. Las poblaciones de agua dulce son depredadas por grandes peces, nutrias, osos y pájaros.



2.1.5 Tolerancia a diferentes variables ambientales

2.1.5.1 Temperatura

La trucha arco iris no tiene capacidad propia para regular su temperatura corporal, esta depende totalmente del medio acuático en el que viva; la trucha es un animal poiquilotermo, a diferencia de los llamados homeotermos, como los mamíferos, que tienen su propia temperatura, con independencia del medio en el que se encuentren. La temperatura tiene una incidencia directa sobre la biología de los salmónidos, ya que condiciona la maduración de las gónadas de los reproductores existentes, el tiempo de incubación de los huevos hasta su eclosión y el crecimiento de alevinos a adultos. Indirectamente influye en la concentración de oxígeno, de amoníaco y en el tiempo de descomposición de los materiales excretados. La temperatura del agua interviene en el grado de actividad metabólica de las truchas, en aguas frías las truchas apenas ingieren alimento y su crecimiento es lento, en temperaturas altas la trucha es muy voraz. La Trucha en condiciones naturales puede vivir en aguas con temperaturas entre 0° y 25°C y en condiciones de cría debe contar con temperaturas entre los 9° y 16°C ya que son las necesarias para su crecimiento y desarrollo.

2.1.5.2 pH

El pH o potencial de hidrógeno en el agua es de suma importancia puesto que los valores demasiado bajos o elevados, causan estrés en las truchas. Los ríos con aguas alcalinas, suelen albergar una fauna salmonícola superior, pues la alcalinidad o riqueza mineral, promueve la existencia de animales acuáticos de los que se alimenta la trucha, a diferencia de las aguas ácidas, que son más pobres desde el punto de vista biológico. Sin embargo, en salmonicultura se prefieren las aguas ligeramente ácidas, pues los productos tóxicos, procedentes de la alimentación artificial de los peces, muestran, en estas condiciones, efectos amortiguados. Para la cría de la trucha arco iris los valores deseables del pH deben estar en un rango de 6.5 a 9, estos son los más apropiados para la producción.



2.1.5.3 Oxígeno Disuelto

Uno de los factores más importantes que determinan la supervivencia de la trucha es la concentración de oxígeno disuelto en el agua. Se estima que los peces en crecimiento deben de tener continuamente tasas mínimas de oxígeno de 5 a 5.5 mg/l, mientras que los huevos y alevines son más exigentes, demandando de 6 a 7 mg/l; con cifras muy inferiores a las mencionadas, las truchas presentan dificultades para extraer el oxígeno del agua y transportarlo a través de sus branquias. Existen diversos factores físicos, químicos y biológicos que determinan la cantidad de oxígeno presente en el agua, uno de los factores es la temperatura, puesto que a medida que esta aumente, menor será la cantidad de oxígeno disuelto en el agua.

2.1.5.4 Amoníaco

El amoníaco (NH_3) es la forma más común de residuos nitrogenados producidos por los peces. La Toxicidad del amoníaco depende de la cantidad de amoníaco presente, que a su vez depende de él pH y la temperatura; en condiciones naturales, el amoníaco no presenta mayor problema para el crecimiento de la trucha ya que se puede diluir en grandes cuerpos de agua y tiene una reducción de la toxicidad en las aguas ácidas o neutras (Barton 1996).

Entre los efectos adversos del amoníaco libre podemos destacar los siguientes:

- ♣ Inhibición del crecimiento
- ♣ Disminución de la fecundidad
- ♣ Disminución de las defensas frente a las enfermedades
- ♣ Irritación del sistema nervioso
- ♣ Pérdida de color en las aletas
- ♣ Destrucción branquial

La tolerancia de los peces a los efectos adversos dependerá de:

- ♣ Tipo y tamaño del pez

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



- ♣ Estado de salud general
- ♣ Escasez de oxígeno

Tabla 2: Relación entre pH y Amoniac

pH	% Amoniac Libre	% Ion Amonio
6	0	100
7	1	99
8	4	96
9	25	75
10	78	22
11	96	4

Fuente: Wuhrman y Woker. (Disponible en internet) <http://peces-tropicales.idoneos.com>

2.2 BIOENSAYO

Los bioensayos son herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología, la cual se ocupa del estudio del efecto y destino de los agentes tóxicos de origen antropogénico a los ecosistemas acuáticos y terrestres (Larrain 1995). Estas pruebas de toxicidad permiten realizar mediciones experimentales del efecto de agentes químicos o físicos en organismos, bajo condiciones controladas en terreno o en laboratorio.

Cuando se implementa el método es necesario efectuar su estandarización, que consiste en establecer la sensibilidad de las especies frente a un tóxico de referencia. Lo anterior es útil para asegurarse que la respuesta de la población expuesta a cierto agente tóxico se deba al efecto de éste y no a variaciones de la sensibilidad de los organismos.

2.2.1 Tipos de bioensayo

2.2.1.1 En cuanto a su duración

- a) Agudos (Corto plazo: minutos, horas): 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. Esta toxicidad es suficientemente alta como para producir una respuesta rápida en los organismos (48 a 96 horas) y no implica necesariamente la muerte.



- b) Crónicos: efectos tóxicos a largo plazo (días, semanas), que pueden mantenerse en alrededor de la décima parte de la vida media de la especie. Están relacionados con cambios en el metabolismo, crecimiento o capacidad de supervivencia (muerte y reducción de la capacidad reproductora).

2.2.1.2 En cuanto a la renovación del medio

- a) Estáticos: Ensayo de toxicidad durante el cual no hay renovación de la solución de ensayo (las soluciones no se renuevan durante todo el ensayo).
- b) Semiestático: Ensayo sin renovación continua de la solución de ensayo, pero con renovación periódica, de las soluciones de ensayo después de períodos prolongados (por ejemplo, cada 24 horas).
- c) Dinámico: Ensayo de toxicidad durante el cual se va renovando constantemente el agua de los recipientes de ensayo. El producto químico sometido a ensayo se transporta con el agua utilizada para renovar el medio de ensayo.

2.2.1.3 En cuanto a la Escala / Lugar de realización

- a) Ensayos de Laboratorio: se realiza con un número reducido de especies, y en condiciones estandarizadas que reproducen sólo en forma muy parcial las condiciones naturales en el ambiente, basados en métodos y protocolos normalizados y con organismos de ensayo (distintos niveles tróficos).
- b) Microcosmos: imita estructura y funciones del ecosistema, a escala de laboratorio.
- c) Mesocosmos: aislamiento de una parte del espacio natural o réplica del mismo.
- d) Estudios de Campo: con “encierros” sometidos a las condiciones del medio (condiciones no controladas), mayor variabilidad.



2.2.2 Toxicidad

La toxicidad es la capacidad o grado de efectividad de una sustancia para producir un efecto nocivo sobre los organismos.

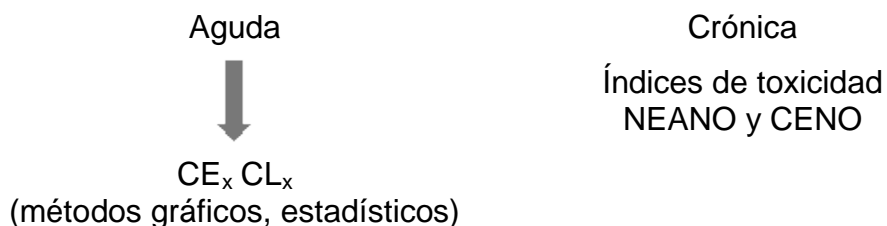
Para que la toxicidad se manifieste se requiere la interrelación de tres elementos: un agente químico capaz de producir un efecto, un sistema biológico con el cual el agente pueda interactuar para producir el efecto, un medio a través del cual el agente y el sistema biológico puedan entrar en contacto e interactuar.

Para referirse a la toxicidad de las sustancias es clásico utilizar las dosis precisas para producir la muerte tras una sola exposición, es decir para originar una intoxicación aguda letal. Esta dosis letal (DL) se calcula por experimentación con suficiente número de organismos para obtener valores de significación estadística.¹

2.2.3 Índices de toxicidad

Los índices de toxicidad expresan los resultados de varios ensayos como un valor único, que indica el nivel de toxicidad de la muestra. Estos índices son una medida cuantitativa de la toxicidad de una sustancia determinada experimentalmente en animales de laboratorio.

Se distinguen dos tipos:



¹NOCIONES BÁSICAS DE TOXICOLOGÍA [en línea] <http://www.cepis.ops-oms.org/acrobat/nocio.pdf> [citado el 10 Junio]



Concentración efectiva (CE_x): concentración del efluente que produce efectos negativos apreciables en un porcentaje "x" de la población de ensayo. Se usa el CE_{50} o EC_{50} , que sería la concentración efectiva que afecta al 50 % de la población.

Concentración letal (CL_x): concentración del efluente que produce la muerte de un porcentaje "x" de la población de ensayo. Se usa el CL_{50} o LC_{50} , que sería la concentración letal que mata al 50 % de la población.

Índices de toxicidad para dosis repetidas (toxicidad subcrónica y crónica).

- ♣ **NEANO (nivel de efectos agudos no observados):** mayor concentración del efluente para la cual la mortalidad registrada es del 10 % o menor.
- ♣ **CENO (concentración de efectos no observables):** mayor concentración continuada medida de un efluente para la cual no se observa reacción crónica alguna en las especies ensayadas.
- ♣ **MCEO (menor concentración que produce efectos observables):** se define como la menor concentración del efluente para la que puede observarse algún efecto sobre la especie ensayada. Se determina con técnicas de análisis de varianzas.

2.2.4 Pruebas de toxicidad

Una prueba de toxicidad típica involucra un agente o estímulo (un pesticida, un metal pesado o una muestra ambiental con contaminantes químicos), el cual se aplica a un organismo o grupo de organismos, denominado sujeto, sobre el que se evalúa una cierta respuesta preseleccionada. La magnitud del estímulo o dosis puede medirse como un peso, un volumen o una concentración.

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



La respuesta del sujeto se valora mediante la cuantificación final de alguna característica, el cambio de ella o por la ocurrencia o no de un fenómeno (muerte)²

2.2.5 Tóxicos de referencia

Un tóxico de referencia es un compuesto químico, orgánico o inorgánico utilizado en pruebas de toxicidad con fines de control de calidad analítica de los organismos a utilizar en las pruebas.

Para ello, en la etapa inicial del montaje de un método de prueba debe seleccionarse un compuesto soluble, de pureza $\geq 99\%$, al cual se le realicen pruebas de toxicidad para una especie determinada, con el fin de establecer el intervalo de concentración del compuesto seleccionado que produce el efecto esperado. Una vez definido el patrón de la relación dosis-respuesta para el compuesto elegido. Puede ser empleado como toxico de referencia.

El registro histórico de la respuesta al tóxico de referencia, expresada a través de los valores de $CL_{50}/Cl_{50}/CE_{50}$, es de utilidad para el control del estado fisiológico de los organismos empleados y sirve de evidencia para demostrar la estabilidad de su respuesta biológica.

Algunos toxicos de referencia son: Cloruro de sodio (NaCl), Cloruro de potasio (KCl). Cloruro de cadmio ($CdCl_2$), Sulfato de cobre ($CuSO_4$), Discromato de potasio entre otros, dependiendo de la especie de prueba, la matriz utilizada y los puntos finales medidos.

2.2.6 Cartas de control de calidad³

La carta de control es una herramienta de registro que brinda los elementos de juicio para establecer los intervalos aceptables de variación de la respuesta de los organismos de prueba a un toxico de referencia, con un margen de confianza del 95%. Esta carta es el medio de referencia para la evidenciar el control de sensibilidad de la especie empleada, de la

² CASTILLO, Gabriela. ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS. Pág. 100, 101

³Ibid, página 136

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



estabilidad de la respuesta biológica y de la repetitividad (exactitud) de los resultados obtenidos.

La carta de control se genera a partir de los resultados de pruebas sucesivas al toxico de referencia, para el cual se obtiene el valor de concentración de efecto medio. Inicialmente puede ser construida con un mínimo de cinco datos, y luego ser completados con una serie de veinte resultados.

Los valores se integran a manera de puntos en un gráfico que relaciona el número de ensayos (eje X o abscisa) y el valor de la concentración de efecto medio (eje Y u ordenada); posteriormente se calcula el valor promedio y la desviación estándar de los datos. Con estos parámetros estadísticos se calculan los valores límite (inferior y superior) que definen el intervalo de variación aceptable o intervalos de confianza, en que deberán encontrarse los valores $CL_{50}/CI_{50}/CE_{50}$ obtenidos para futuros ensayos con el toxico de referencia. Los valores de limite superior e inferior se obtienen de sumar o restar del promedio, dos desviaciones estandar.

Por otra parte la precision intralaboratorio de cada procedimiento de prueba se debe expresar en terminos del coeficiente de variacion (CV%) calculado a partir de:

$$CV = \left[\left(\sigma / media \right) \times 100 \right]$$

Este valor se establece realizando un minimo de cinco o mas ensayos con diferentes lotes de organismos, el mismo toxico de referencia, iguales concentraciones, condiciones y análisis de datos.

2.2.7 Replicabilidad y sensibilidad⁴

La sensibilidad de las pruebas depende del número de réplicas por concentración, nivel de significancia establecido y tipo de análisis estadístico que se lleve a cabo. Por esta razón cuando la variabilidad permanece constante, la sensibilidad de la prueba puede incrementarse

⁴Ibid, pagina 138.

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



aumentando el número de réplicas. Sin embargo, el mínimo número de réplicas variara con los objetivos de la prueba y el método estadístico seleccionado para análisis de los datos.

Algunos factores que pueden afectar el éxito y la precisión de un ensayo son:

- ♣ Experiencia y habilidad del analista
- ♣ Edad, condición y sensibilidad de los organismo
- ♣ Calidad del agua de dilución
- ♣ Control de temperatura
- ♣ Cantidad y calidad del alimento suministrado a los organismos

2.3 SUSTANCIAS DE PRUEBA

2.3.1 Boro (B)

Es un metaloide y es el único elemento no metálico con menos de cuatro electrones en la capa externa, es semiconductor a bajas temperaturas pero cuando asciende a temperaturas mayores su punto de ebullición es un excelente conductor.

No se encuentra libre en la naturaleza y forma cadenas moleculares estables por medio de enlaces covalentes. Aunque no es un metal presenta propiedades metálicas, como el brillo de sus cristales; se emplea principalmente en la industria metalúrgica, su gran reactividad a temperaturas altas, en particular con oxígeno y nitrógeno, lo hace útil como agente metalúrgico degasificante; se utiliza para refinar el aluminio y facilitar el tratamiento térmico del hierro maleable. Posee una estructura cristalina solida hexagonal, su número atómico es 5 y tiene una densidad de 2.34 gr/cm^3 , su punto de fusión es de 2180°C y de ebullición de 3650°C .

2.3.1.1 Efectos ambientales

El boro no puede ser destruido en el ambiente, solamente puede cambiar de forma, adherirse o separarse de partículas en el suelo, el sedimento y el agua.

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Se ha descubierto que las altas concentraciones de boro en aguas, ocasionadas en su mayoría por vertimientos no establecidos, puede llegar a ser altamente tóxico para las especies acuática aproximadamente en concentraciones de 10 a 300 mg/lit.

El boro se encuentra ampliamente distribuido en agua de superficie y en agua subterránea, la concentración media en agua de superficie es de aproximadamente 0.1 mg por litro (mg/L), las concentraciones en agua subterránea pueden alcanzar hasta 300 mg/L en áreas con depósitos naturales ricos en boro y en muestras de agua potable se han encontrado concentraciones de hasta 0.4 mg/L. Para plantas acuáticas el compuesto de boro más peligroso es el borato de potasio y ocasionalmente los halógenos de boro son extremadamente dañinos en medios acuáticos.

En el suelo se han encontrado concentraciones medias de 26 y 33 mg por kilogramo (mg/kg) y es improbable que la población general esté expuesta a aire contaminado con boro. El nivel promedio de boro en muestras de aire es de 0.00005 mg de boro por metro cúbico de aire (mg boro/m³).⁵

Efectos sobre organismos⁶:

Las bacterias son relativamente tolerantes con el boro. Las concentraciones aguda y crónica tiene un valor que oscila entre 8 y 340 de boro mg / litro, con la mayoría de los valores de boro superiores a 18 mg / litro. Los protozoos son más sensibles.

Pruebas crónicas con algas verdes de agua dulce han dado como resultado de la relación concentración-efecto valores entre 10 y 24 de boro mg / litro.

Con base en los valores de toxicidad aguda, los invertebrados son menos sensibles al boro que los microorganismos. Para varias especies, con tiempo de exposición de 24 a 48 horas varió de 95 a 1.376 mg de boro/litro, con la mayoría de los valores de boro entre 100-200 mg / litro. Para estudios de toxicidad crónica con *Daphnia magna* dio entre 6 y 10 mg de boro por litro.

⁵ATSDR. Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades. P 2007. (Disponible en internet). En línea <http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs26.pdf>

⁶ BORO [en línea] <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc204.htm> [citado el 15 de agosto]



Pruebas de toxicidad aguda con varias especies de peces ha dado valores que van desde 10 a casi 300 mg de boro por litro. La trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y pez cebra (*Brachydaniorerio*) eran los más sensibles.

Tabla 3: Toxicidad del borato para las bacterias, protozoos y algas

ORGANISMO	CONCENTRACIÓN (mgBoro/L)	REFERENCIA
Salmon coho (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	113	Hamilton & Buhl (1990)
Salmón Chinook (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>)	105	Hamilton & Buhl (1990)
Carpita cabezona (<i>Pimephalespromelas</i>)	332	NAPM (1974)
Orfe de oro (<i>Leuciscus idus</i>)	173	Schöberl & Huber (1988)
Trucha Arco Iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	138	Black et al. (1993)
Bagre de canal (<i>Ictalurus punctatus</i>)	120	Birge & Black (1977)
Bacterias	18	http://www.greenfacts.org/es/boro/l-2/boron-5.htm#0
Protozoos	0,3 - 18	
Pulga de Agua <i>Daphnia magna</i>	6 - 10	
Pulga de Agua <i>Daphnia magna</i> ⁷	3,17	

Fuente: Autoras, 2010

Efectos de experimentación en animales⁸

Los estudios en animales permitieron observar degeneración o atrofia en los seminíferos tubulares con dosis de 141 mg/kg de peso corporal. En los perros hay encogimiento del escroto y pérdida de peso testicular.

Ratas con ingesta de 0 a 58 mg. de Boro por kilo peso corporal, en estado de gestación (Heindel et. Al. 1992) presentaron fetos con malformaciones, ya desde una ingesta de 29 mg. de Boro por kilo de peso corporal. Las malformaciones consistieron sobre todo en anomalías de los ojos, sistema nervioso central y sistema cardiovascular. Las malformaciones más

⁷ Determinación de la concentración letal media de litio y boro, sobre ecosistemas acuáticos mediante ensayos de toxicidad sobre DAPHNIA magna

⁸ OMS recomienda 2 mg/día de Boro [en línea] <http://www.elmorrocotudo.cl/admin/render/noticia/8931> [citado el 5 de noviembre de 2010]

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



comunes eran ampliación de ventrículos laterales en el cerebro y la agenesia o acortamiento de la costilla. Con menos dosis, los nacidos presentaron bajo peso en promedio.

La toxicidad del ácido bórico en ratones con mg. 0, 43, 79, ó 175 de Boro por kilogramo de peso corporal por día en la dieta fueron investigados (Heindel et al., 1992). Había una disminución relativa a la dosis significativa del peso corporal fetal medio (mg. 79 y 175). Sus descendientes presentaron una deficiencia creciente de las malformaciones esqueléticas (de la costilla). Estos cambios ocurrieron en las dosis para las cuales había también muestras de la toxicidad maternal (peso y patología crecientes del riñón); el LOAEL para los efectos de desarrollo (peso corporal fetal disminuido) era mg. 79 de Boro por kilogramo de peso corporal por día.

La toxicidad del ácido bórico en conejos fueron investigados por Price et al. (1996) en las dosis de 0, 11, 22, o 44 de mg. Boro por kilogramo de peso corporal por día. Los efectos de desarrollo en los conejos expuestos a 44 mg. de Boro por kilogramo de peso corporal por día incluyeron un alto índice de la mortalidad prenatal, un número creciente de hembras embarazadas sin fetos vivos, y pocos fetos vivos. En la dosis alta, los fetos vivos malformados aumentaron perceptiblemente, sobre todo debido a la incidencia de fetos con defectos cardiovasculares, el más frecuente de cuál era defecto septal interventricular.

2.3.1.2 Efectos en la salud

Es un elemento que se da por la naturaleza a través de procesos de erosión, puede estar presente en aguas subterráneas. Los seres humanos pueden estar expuestos al boro a través de los alimentos, el agua y el aire; por lo que pueden llegar a consumir diariamente 2 mg y poseen alrededor de 18 mg en el cuerpo.

Cuando los seres humanos consumen grandes cantidades de boro pueden causar problemas de salud, como infectar el estómago, el hígado, los riñones y el cerebro y en algunas ocasiones puede provocar la muerte. Cuando hay exposición en pequeñas cantidades de boro



causa irritación de la nariz, la garganta o los ojos; solo bastan 5 g de ácido boro para hacer enfermar a una persona y 20 gramos o más para poner su vida en peligro. Hace parte de las cadenas alimenticias cuando las plantas lo absorben del suelo y luego es consumido por animales y hombres. La acumulación de este elemento durante el periodo de gestación, puede generar malformaciones, defectos y cambios severos en los fetos durante el nacimiento y desarrollo.

2.3.2 Selenio (Se)

Elemento químico, símbolo Se, número atómico 34 y peso atómico 78.96. Sus propiedades son semejantes a las del telurio. El selenio arde en el aire con una flama azul para dar dióxido de selenio, SeO₂. El elemento también reacciona directamente con diversos metales y no metales, entre ellos el hidrógeno y los halógenos.

El único compuesto importante del selenio es el seleniuro de hidrógeno (H₂Se), gas venenoso incoloro e inflamable con un olor desagradable, gran toxicidad y estabilidad térmica menor que la del sulfuro de hidrógeno; disuelto en agua el seleniuro de hidrógeno puede precipitar muchos iones de metales pesados como seleniuros muy poco solubles.

2.3.2.1 Efectos ambientales

El selenio se presenta naturalmente en el medio ambiente. Es liberado tanto a través de procesos naturales como de actividades humanas. En su forma natural el selenio como elemento no puede ser creado ni destruido, pero tiene la capacidad de cambiar de forma.

Bajos niveles de selenio pueden terminar en suelos o agua a través de la erosión de las rocas. Será entonces tomado por las plantas o acabará en el aire cuando es absorbido en finas partículas de polvo. Es más probable que el selenio entre en el aire a través de la combustión



de carbón y aceite, en forma de dióxido de selenio. Esta sustancia será transformada en ácido de selenio en el agua o el sudor.

Las sustancias en el aire que contienen selenio son normalmente descompuestas en selenio y agua bastante rápido, de forma que no son peligrosas para la salud de los organismos; pero su precipitación aumenta sus niveles en el suelo y agua.

El selenio que es inmóvil y no se disuelve en el agua representa menor riesgo para los organismos. Los niveles de oxígeno en el aire y la acidez del suelo aumentarán las formas móviles del selenio. Las actividades humanas tales como los procesos industriales y agrícolas incrementan los niveles de oxígeno y la acidez de los suelos. Cuando el selenio es móvil, las probabilidades de exposición a sus componentes aumentarán considerablemente. La temperatura del suelo, la humedad, las concentraciones de selenio soluble en agua, la estación del año, el contenido en materia orgánica y la actividad microbiana determinarán la rapidez con la que el selenio se mueve a través del suelo. En otras palabras, estos factores determinan su movilidad.

La agricultura puede no solo incrementar el contenido de selenio en el suelo; también puede aumentar las concentraciones de selenio en las aguas superficiales, ya que las aguas de drenaje de irrigación portan selenio.

El comportamiento del selenio en el medio ambiente depende fuertemente de sus interacciones con otros componentes y de las condiciones medio ambientales en el lugar y hora concreta.

Existe evidencia de que el selenio puede acumularse en los tejidos corporales de los organismos y puede ser transportada en la cadena alimenticia hacia niveles superiores. Normalmente esta biomagnificación de selenio comienza cuando los animales ingieren muchas plantas que han estado absorbiendo enormes cantidades de selenio, antes de la ingestión. Debido a la irrigación, las concentraciones de selenio en la escorrentía tienden a ser muy altas en organismos acuáticos en muchas zonas. Cuando los animales absorben o

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



acumulan concentraciones de selenio extremadamente grandes, puede causar fallo reproductivo y defectos de nacimiento.

La cantidad de selenio en el agua es de 0,004 g/ton⁹

Selenio en los organismos¹⁰: se sabe que ciertas plantas cuando se cultivan con altas concentraciones de selenio, lo acumulan, ya sea que el selenio provenga de fuentes naturales o de residuos industriales.

Se ha encontrado selenio en especies del género (*Astragalus* (vezas) de la Familia Leguminosae y *Xylorhiza* (éster leñosos) de la Familia Compositae, *Oenothera* (hierba dorada) de la Familia Compositae y *Standleya* (pluma de príncipe) de la Familia Rubiaceae. Estos vegetales pueden concentrar hasta 1,5% de selenio en sus tejidos. Por ello, se les conoce como plantas indicadoras de este elemento. Además, estas plantas pueden llegar a intoxicar al ganado que se alimente en regiones seleníferas.

La acumulación de selenio en los sistemas acuáticos de agua se produce a concentraciones relativamente bajas de Se. Por ejemplo, el fitoplancton y las bacterias incorporan activamente selenito y selenato en las paredes celulares a un ritmo proporcional a su concentración en la columna de agua (Bowie et al. 1996). Zooplancton y los peces reciben la mayoría de Se de su dieta, (Bowie et al. 1996).

El selenio se acumula principalmente en el hígado, seguido de la gónada y el tejido muscular (Kennedy et al. 2000). Por lo tanto, incluso pequeñas aportaciones de Se en el medio acuático rápidamente puede acumularse en la cadena de la intoxicación alimentaria a niveles tróficos superiores.

El Se tiene diferentes rutas de absorción y distribución dentro de un organismo. Por ejemplo, las carpas cabezonas acumulan más selenita y selenio-metionina (Kleinow y

⁹ ALBERT, Lilia. Curso básico de toxicología ambiental. LIMUSA S.A. 2 Ed. México, 1999. Pag 212

¹⁰ Ibit, pag 213



Brooks, 1986a), pero el selenato es absorbido más eficientemente por el tracto gastrointestinal que la selenita (Kleinow y 1986a Brooks; Kleinow y Brooks 1986b). Poco se sabe sobre el mecanismo de absorción de los peces, pero en los ratones, el selenio se recoge a través de un mecanismo de transportación de aminoácidos en el duodeno (Andersen et al. 1994). Los peces también pueden tomar Se a través de sus branquias, en la trucha arco iris la acumulación es mayor después del desarrollo de papada (Hodson et al. 1986). La principal vía de eliminación de Se es la orina, aunque una cantidad significativa de Se también se elimina por las agallas y la bilis (Kleinow y Brooks 1986).

Tabla 4 Niveles de toxicidad aguda selenio especies de peces

Organism	Scientific Names	Life Stage	Se Species	Test	Se Concentration (mg/L)	Source
Arctic Grayling	<i>Thumallus arcticus</i>	alevin	selenate ^b	96hr LC ₅₀	100.0	(Buhl and Hamilton 1991)
Arctic Grayling		alevin	selenite ^a	96hr LC ₅₀	76.0	(Buhl and Hamilton 1991)
Arctic Grayling		juvenile	selenate ^b	96hr LC ₅₀	180.0	(Buhl and Hamilton 1991)
Arctic Grayling		juvenile	selenite ^a	96hr LC ₅₀	34.3	(Buhl and Hamilton 1991)
Bluegill	<i>Lepomis macrochirus</i>		selenium dioxide	LC ₅₀	28.5	(USEPA 1980)
Brook trout	<i>Salvelinus fontinalis</i>		selenium dioxide	LC ₅₀	10.2	(USEPA 1980)
Coho Salmon	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	alevin	selenate ^b	96hr LC ₅₀	379.0	(Buhl and Hamilton 1991)
Coho Salmon		alevin	selenite ^a	96hr LC ₅₀	80.0	(Buhl and Hamilton 1991)
Coho Salmon		juvenile	selenate ^b	96hr LC ₅₀	74.0	(Buhl and Hamilton 1991)
Coho Salmon		juvenile	selenite ^a	96hr LC ₅₀	7.8	(Buhl and Hamilton 1991)
Fathead Minnow	<i>Pimephales promelas</i>		selenite	LC ₅₀	2.2 – 10.5	(Adams 1976)
Fathead Minnow		fry	selenite ^a	96hr LC ₅₀	1.1	(Halter et al. 1980)
Goldfish	<i>Carassius auratus</i>		selenium dioxide	LC ₅₀	26.1	(USEPA 1980)
Mosquito fish	<i>Cambosia affinis</i>		selenite ^a	LC ₅₀	12.6	(USEPA 1980)
Rainbow Trout	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	alevin	selenate ^b	96hr LC ₅₀	47.0	(Buhl and Hamilton 1991)
Rainbow Trout		alevin	selenite ^a	96hr LC ₅₀	118.0	(Buhl and Hamilton 1991)
Rainbow Trout		juvenile	selenate ^b	96hr LC ₅₀	32.3	(Buhl and Hamilton 1991)
Rainbow Trout		juvenile	selenite ^a	96hr LC ₅₀	9.0	(Buhl and Hamilton 1991)
Rainbow Trout			selenite ^a	96hr LC ₅₀	1.8	(Hunn et al. 1987)
Rainbow Trout			selenite ^a	96hr LC ₅₀	7.2	(Hodson et al. 1980)
Rainbow Trout			selenite ^a	96hr LC ₅₀	4.2-4.5	(Adams 1976)
Rainbow Trout		juvenile	selenite ^a	96hr LC ₅₀	12.5	(Goeltl and Davies 1976)

^aNaSeO₃
^bNaSeO₄

Fuente: www.uleth.ca/dspace/bitstream/10133/397/1/miller,%20lana.pdf

Efecto sobre peces: El selenio se acumula en los huevos de peces expuestos (Kennedy 2000; Lemly 2002) causando deformidades teratogénicas, un marcador permanente patológico de selenosis. Los síntomas de la teratogénesis incluyen lordosis (columna cóncava), cifosis (columna convexa), desaparición y/o deformación de aletas, agallas, falta y/o deformación de ojos y boca (Lemly 1997).

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



En casos severos, las poblaciones de peces disminuyen o desaparecen debido a (Lemly 1999), sin embargo, no todas las especies responden al selenio en la misma forma. Este metal tiene un impacto negativo en el éxito reproductivo en la trucha arco iris (Holm 2005)

Otros síntomas de la selenosis incluyen cataratas, que sobresalen ojos, inflamación de laminillas, hemorragia, edema, anemia, aumento de los niveles de iones en sangre, pericarditis, miocarditis, necrosis hepática, necrosis renal y disminución en el conteo de glóbulos blancos (Sorensen 1982; Lemly 1997; Lohner 2001; Lemly 2002).

La toxicidad de selenio varía considerablemente dependiendo de las especies de peces, la forma de Se, la etapa de la vida de la organismo y muchos otros factores. En general, selenito (+4) es más tóxico que el selenato (+6).

2.3.2.2 Efectos en la salud

La exposición al selenio tiene lugar principalmente a través de la comida, debido a que está presente naturalmente en los cereales y la carne. Los humanos necesitan absorber ciertas cantidades de selenio diariamente, con el objeto de mantener una buena salud. Las personas que viven cerca de lugares donde hay residuos peligrosos experimentarán una mayor exposición a través del suelo y del aire. El selenio procedente de cultivos y de lugares donde hay residuos peligrosos acabará en las aguas subterráneas o superficiales por irrigación. Las personas que trabajan en las industrias del metal, industrias recuperadoras de selenio e industrias de pintura también tienden a experimentar una mayor exposición al selenio, principalmente a través de la respiración.

Los efectos sobre la salud de las diversas formas del selenio pueden variar de pelo quebradizo y uñas deformadas, a sarpullidos, calor, hinchamiento de la piel y dolores agudos, cuando el selenio acaba en los ojos las personas experimentan quemaduras, irritación y lagrimeo; también se ha presentado envenenamiento por selenio y este puede volverse tan agudo que en algunos casos puede causar la muerte.



La sobre-exposición a vapores de selenio puede producir acumulación de líquido en los pulmones, mal aliento, bronquitis, neumonía, asma bronquítica, náuseas, escalofríos, fiebre, dolor de cabeza, dolor de garganta, falta de aliento, conjuntivitis, vómitos, dolores abdominales, diarrea y agrandamiento del hígado.

Carcinogenicidad: La Agencia Internacional de la Investigación del Cáncer (IARC) ha incluido al selenio dentro del grupo 3 (el agente no es clasificable en relación a su carcinogenicidad en humanos).

2.4 MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA ANÁLISIS DE PRUEBAS DE TOXICIDAD

En la toxicología la estadística es básica para la planificación, la ejecución, el análisis y la interpretación de los resultados de las pruebas de toxicidad; sin embargo una parte fundamental es la relación entre la concentración de un compuesto químico a la cual se expone un organismo (alevino de Trucha Arco Iris) y el efecto nocivo que le produce; esta relación, es llamada como la relación dosis-respuesta, que constituye la base para la evaluación del peligro y el riesgo generado por las sustancias químicas en el medio ambiente. Existen muchas formas de determinar la toxicidad como los efectos bioquímicos, fisiológicos y de comportamiento son muy importantes, sin embargo el indicador más utilizado es la muerte del organismo de prueba.

Otro indicador que ha ganado gran popularidad es la dosis o concentración más alta a la cual no se observa ningún efecto (NOEC). La mayoría de las pruebas de toxicidad suministra una estimación de la dosis que produce una respuesta toxica, como la dosis letal media es la concentración que mata al 50% de la población (CL_{50}).

Para los análisis de pruebas de toxicidad existen dos variables y se en cualitativas y cuantitativas, las cualitativas son aquellas que no aparecen en forma numérica, sino como categorías (sexo, tamaño, color) y deben ser expresadas de forma cuantitativa antes de ser analizadas y las cuantitativas son aquellas que se expresan mediante cantidades numéricas y pueden ser analizadas en forma directa a través de análisis estadísticos de regresión. En las



pruebas de toxicidad se evalúa la mortalidad como variable cualitativa ya que solo se pueden tomar los estados de vivo o muerto y esta debe ser expresada como porcentaje de muertos antes de poder ser analizadas por métodos de regresión.

Para el análisis de las relaciones cuantitativas entre la dosis y la respuesta, es necesario recurrir a modelos matemáticos que describan dicha relación, se clasifican en:

- ♣ **Mecanístico:** es un modelo que intenta describir un proceso basándose en postulados acerca de la mecánica de dicho proceso.
- ♣ **Empírico o descriptivo:** es un modelo que intenta describir cuantitativamente los patrones de las observaciones sin basarse en los procesos subyacentes o mecánica del proceso.
- ♣ **Determinístico o no estocástico:** es un modelo en el que dado un dato en particular, la predicción que se obtiene del modelo es siempre el mismo valor.
- ♣ **Probabilístico o estocástico:** es un modelo en el que dado un dato en particular, la predicción que se obtiene del modelo es un valor variable.

En las pruebas de toxicidad los modelos matemáticos más empleados son los de tipo empírico o descriptivo de forma rectilínea a los cuales se llega muchas veces luego de haber transformado una o las dos variables estudiadas.

2.4.1 Método Probit (Paramétrico)

El método consiste en la aplicación de correlaciones estadísticas para estimar las consecuencias desfavorables sobre una población.¹¹

Está basado en la cuantificación probabilística de la vulnerabilidad ante efectos físicos de una magnitud determinada; la vulnerabilidad se expresa como el número de individuos que previsiblemente pueden resultar afectados con un cierto nivel de daño.

¹¹GRUPO DE INVESTIGACIÓN ANALÍTICA DE RIESGO. (Disponible en internet). En línea
<http://www.unizar.es/guiar/1/Accident/An_conse/Probit.htm>



Para el cálculo de los CL_{50} generalmente se usa el análisis Probit (con o sin ajuste). En pruebas de toxicidad aguda se tiene la siguiente situación:

$$p = r/n \times 100$$

Dónde:

- ♣ Concentración de la sustancia o dosis (d).
- ♣ Número de individuos (n).
- ♣ Número de organismos muertos o afectados (r).
- ♣ Porcentaje de efecto (p).

La representación gráfica de p vs. d , (relación dosis-respuesta), genera una curva parabólica que muchas veces presenta dificultades en la construcción de un modelo lineal. Una forma de abordar este problema es transformando d a una escala logarítmica ($X = \log_{10}(d)$), lo cual mostrará una relación dosis-respuesta de forma S o sigmoidea; de esta manera la distribución de p vs. X será de tipo normal.

Posteriormente, mediante las tablas de Probit se transforma p (porcentaje de efecto) a unidades Probit (buscando en una tabla de distribución normal el valor de z correspondiente a una probabilidad acumulada igual a p y sumándole a continuación cinco unidades), se obtiene una distribución de puntos en un sistema bivariado de tipo lineal, los cuales se procesan según un análisis de regresión típico.

Vale la pena enfatizar que el Probit es una transformación sobre la tasa de efecto (p), y la ecuación generada es de la forma:

$$y = a + bx$$

Dónde:

- ♣ y (expresado en unidades Probit) = $z + 5$
- ♣ z = variable normal estándar = z_0 tal que la $\text{Prob } z \leq z_0 = p$
- ♣ a, b (estimadores de los parámetros de la recta de regresión)



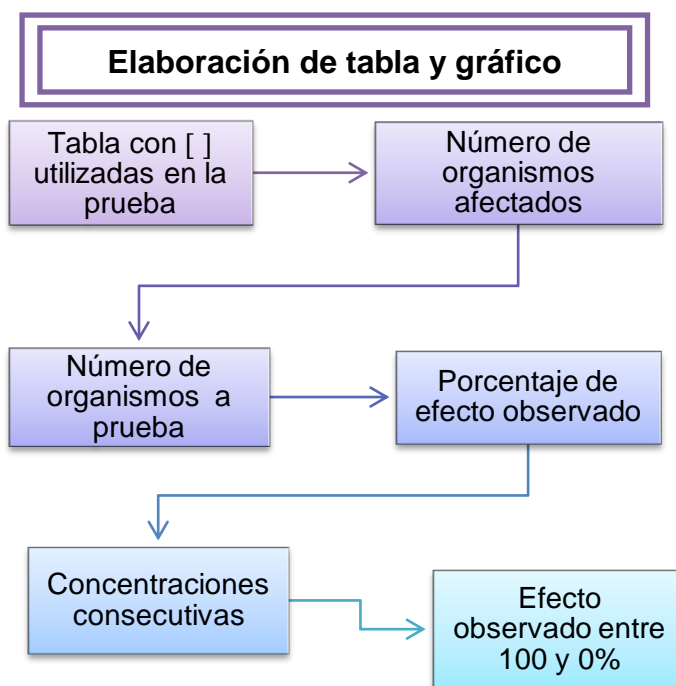
- ♣ $p = 50\%$ entonces $y = 5$, por lo tanto:
- ♣ $X = \log_{10} CL_{50}$, entonces $CL_{50} = 10^5$

El procedimiento Probit permite encontrar estimadores m -verosímiles de parámetros de regresión y de tasas naturales (por ejemplo, tasas de mortalidad) de respuesta para ensayos biológicos, analizando porcentajes de efecto vs dosis dentro del marco de la regresión.

2.4.2 Método Litchfield – Wilcoxon (Gráfico)

Este método consiste en la construcción de una gráfica a partir de los datos obtenidos en pruebas de toxicidad aguda de un agente tóxico, se utiliza papel *prob-log*, en el cual se colocan en el eje de las X el logaritmo (X) de las concentraciones usadas y en el eje de las Y el porcentaje de respuesta del efecto observado. Para el cálculo de la CL_{50} mediante este método, es necesario tener por lo menos, un porcentaje intermedio (valores entre 0 y 100% de efecto).

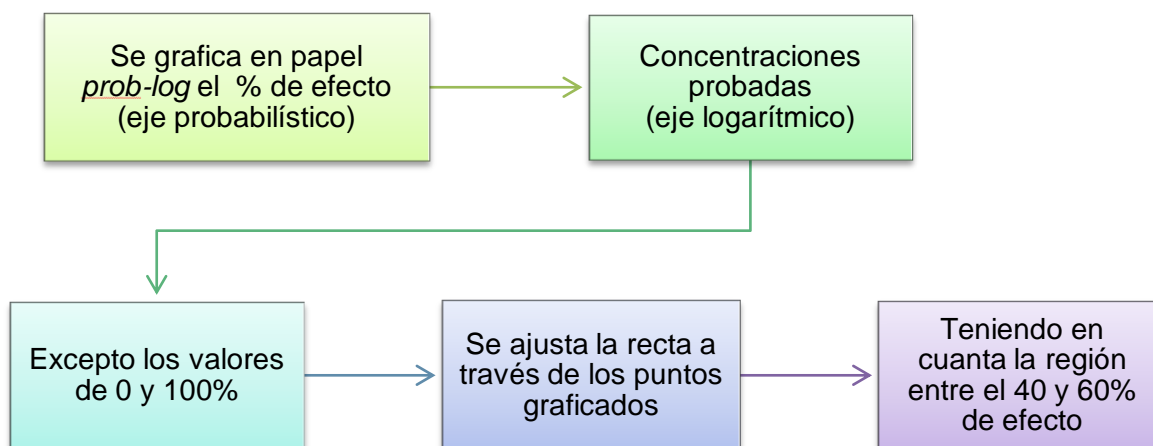
Diagrama 1: Metodología método grafico



Fuente: las autoras. 2010



Diagrama 2: Metodología método grafico



Fuente: las autoras. 2010

Obtención de los porcentajes de efecto esperado

- ♣ A partir de los puntos de intersección de la recta trazada con los valores de las concentraciones, se obtienen los respectivos porcentajes de efecto esperado, los cuales se anotan en la columna correspondiente de la tabla. No se deben considerarlos valores de porcentaje esperado para cualquier concentración probada que estén por debajo de 0,01% o por encima de 99,9 %.

Introducción de los valores 0 y 100% de efecto observado

- ♣ Utilizando los porcentajes de efectos esperados, se obtienen mediante una tabla los valores corregidos para los porcentajes 0 y 100 de efecto. A continuación se tabulan los valores al lado de los porcentajes de efecto observado. En el gráfico se ubican los valores corregidos y se verifica si la recta trazada es adecuada, cuando la recta trazada es inadecuada, se rehace la recta repitiendo el procedimiento antes mencionado para obtener un ajuste de los valores esperados y corregidos.



Determinación de la CL_{50}

- Mediante el uso de la recta trazada se obtiene en el eje logarítmico la concentración correspondiente al 50% del efecto observado sobre el eje probabilístico. La concentración así obtenida corresponde a la CL_{50} .

2.4.3 Método gráfico

El método gráfico parte de los datos obtenidos en las pruebas de toxicidad aguda, graficados en escala logarítmica, en el eje X las concentraciones (mg/L) y en el eje Y el porcentaje de mortalidad.

Se colocan los puntos de los porcentajes de mortalidad observados (en escala lineal) en función de las concentraciones probadas (en escala logarítmica); se conectan los puntos obtenidos más cercanos al 50% del efecto observado (la mayor concentración que no causa efecto tóxico y la menor concentración que causa efecto tóxico).

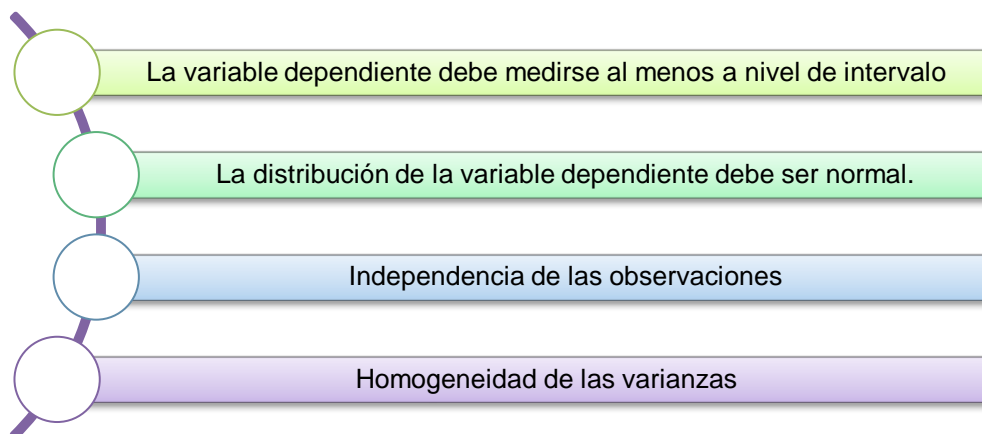
A partir de la recta trazada, se obtiene el punto de corte correspondiente al 50% del efecto observado. Este valor corresponde a la $CL_{50}/CE_{50}/CI_{50}$ del estímulo o agente estudiado (Hubert, 1980 y 1995; Finney, 1978).

2.4.4 Análisis de varianza (ANOVA)

En estadística el análisis de varianza (ANOVA) es una colección de modelos estadísticos y procedimientos asociados. Esta prueba está diseñada para comparar los resultados obtenidos para un tratamiento en particular contra un control (tratamiento con dosis cero). Para este tipo de análisis se requiere que el número de réplicas por tratamiento sea superior a tres y que todos los tratamientos tengan el mismo número de réplicas. En el caso que las réplicas sean menores de tres no se deberá proceder con una prueba hipótesis.



Diagrama 3: Principios del modelo ANOVA



Fuente: las autoras. 2010

Por medio de ANOVA se obtuvieron las estimaciones de los parámetros para relacionar las variables y posteriormente se utilizó para determinar los valores de la concentración del tóxico que causa un grado de efecto sobre los organismos expuestos.

2.5 INDUSTRIA

Se realizó un muestreo puntual al vertimiento en una industria de tintas y pinturas ubicada en el Municipio de Soacha. La industria se especializa en recubrimiento de superficies con barnices, lacas, pinturas, tintas y esmaltes.

Composición química de la pintura¹²

Las fórmulas de la pintura moderna cuentan con diversas categorías de compuestos químicos. El aglutinante forma el recubrimiento fino adherente, el pigmento dispersado en el medio fluido, da a la película terminada su color y su poder cubriente y el disolvente o diluyente se evapora con rapidez una vez extendida la pintura. El aglutinante puede ser aceite no saturado o secante, que es éster formado por la reacción de un ácido carboxílico de cadena larga (como el ácido linoleico) con un alcohol viscoso, como la glicerina.

¹²http://www.puntoambiental.com/informes/pintura_curtiembres.pdf



Pigmentos

Los pigmentos para pinturas son polvos finos que o bien reflejan toda la luz para producir un efecto blanco o absorben ciertas longitudes de onda de la luz para producir un efecto coloreado.

Los pigmentos blancos más corrientes son óxidos inorgánicos, como el dióxido de titanio (TiO_2), el óxido de antimonio (SbO_3) y el óxido de cinc (ZnO). Se usan también otros compuestos inorgánicos insolubles, como el sulfuro de cinc (ZnS), el albayalde (hidroxicarbonato, hidroxisulfato, hidroxifosfito o hidroxisilicato de plomo) y el sulfato de bario ($BaSO_4$). Los óxidos inorgánicos más comunes para colores son: el óxido de hierro (III), Fe_2O_3 (amarillo rojo o color tierra), el óxido de cromo (III), Cr_2O_3 (verde) y el óxido de plomo (IV), Pb_3O_4 (rojo).

Los cromatos de plomo, cinc, estroncio y níquel producen distintas gamas de amarillo y anaranjado. Se utiliza un conjunto de sólidos orgánicos para obtener otros colores.

A continuación se presenta una tabla que contiene los colorantes más utilizados en las industrias de pinturas y tintas.

Tabla 5: Colorantes y su composición

COLORES	COMPOSICIÓN	OBSERVACIONES
Blanco de plomo	Carbonato básico de plomo	No mezclar con colores que contienen cadmio Excelente para las aclaraciones
Blanco de titanio	Bióxido de titanio	No mezclar con colores que contienen cadmio Es buen cubriente, luminoso, intenso
Blanco de cinc	Óxido de cinc	Cuando se mezcla, tiene la tendencia a agrisarse y tiene bajo poder cubriente.
Azul cobalto	Aluminato de cobalto	Excelente resistencia a la luz Estable cuando mezclado con otros colores
Azul de manganeso	Manganato	
Azul de Prusia	Ferrocianuro de hierro	Utilizar alcohol para humedecerlo Poder colorante elevado

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



COLORES	COMPOSICIÓN	OBSERVACIONES
Azul ultramar	Sulfuro de sodio y silicato de alúmina	Luminoso e intenso No mezclar con el amarillo cromo
Amarillo cadmio genuino	Sulfuro de cadmio	No mezclarlo con el blanco de plomo o con el azul ultramar y es buen cubriente
Amarillo cromo	Estañado de cromo-aluminio	Baja resistencia a la luz Ennegrece con el tiempo
Naranja de marte	Óxido de hierro	
Púrpura de cadmio genuino	Sulfoseleniuro de cadmio	
Rojo de cadmio genuino	Sulfoseleniuro de cadmio	No mezclar con el blanco de plomo o con el blanco de titanio y es buen cubriente
Rojo de marte	Óxido de hierro	Poder colorante elevado Da una película transparente
Rojo de Venecia	Óxido de hierro	Muy estable a la luz y es buen cubriente
Rojo Helios	Rojo de toluidina (orgánico)	Intenso y luminoso Poder colorante elevado
Verde cromo	Oxido de cromo hidratado	Cubriente y colorante - Muy buena estabilidad mezclado con otros colores
Verde esmeralda genuino	Oxido de cromo hidratado	Buena solidez cuando mezclado con otros colores

Fuente: http://www.atelier-st-andre.net/es/paginas/tecnica/tabla_colores.html

A continuación se muestra las principales características del colorante:

Ilustración 3: Descripción de producto¹³



¹³ <http://spanish.alibaba.com/product-gs/cadmium-red-pigment-for-glaze-313023023.html>

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Composición química:

CdS.CdSe/CdS.HgS

CdS.CdSe.BaSO₄/CdS.HgS.BaSO₄

El colorante más utilizado en la industria es el rojo del cadmio, por su alta fuerza de teñido, color brillante, firmeza ligera y excelente. Con el contenido creciente de CdSe, el color rojo es más fuerte y más oscuro y con una mejor dispersión en medios orgánicos. Por consiguiente, el vertimiento contiene selenio y es utilizado para determinar su efecto tóxico.



3. METODOLOGÍA

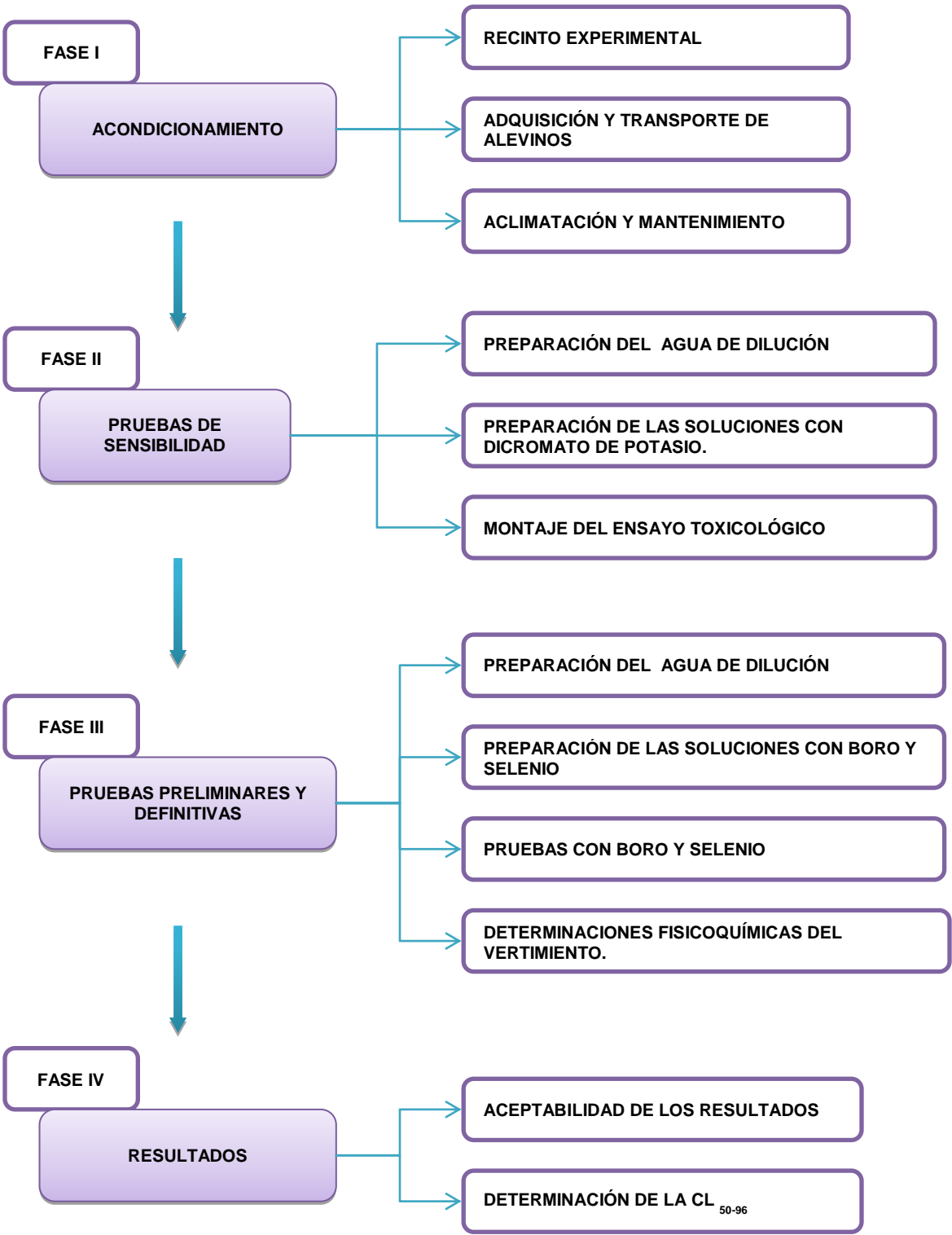
En esta investigación se implementó una metodología de diseño experimental fundamentada en la recolección de datos para dar respuestas y resultados de los efectos y los cambios producidos por una problemática ambiental que adquiere mayor relevancia al pasar del tiempo como lo es la contaminación hídrica.

La metodología comprende cuatro (4) fases, la primera es la fase de acondicionamiento de los alevinos donde se prepara el recinto experimental, se adquieren, se transportan, se aclimatan y se les realiza el mantenimiento; la segunda fase es para pruebas de sensibilidad donde se exponen los alevinos al tóxico de referencia; la tercera fase es para pruebas preliminares y definitivas donde se exponen los alevinos a las dos sustancias tóxicas a diferentes concentraciones y la fase cuatro es la de resultados donde se determina la concentración letal media (CL_{50-96}).

A continuación se presenta el diagrama de la metodología utilizada para la determinación de la concentración letal media de Boro y Selenio sobre alevinos de Trucha Arco Iris.



Diagrama 4: Metodología para la determinación del CL_{50} de Boro y Selenio



Fuente: las autoras. 2010



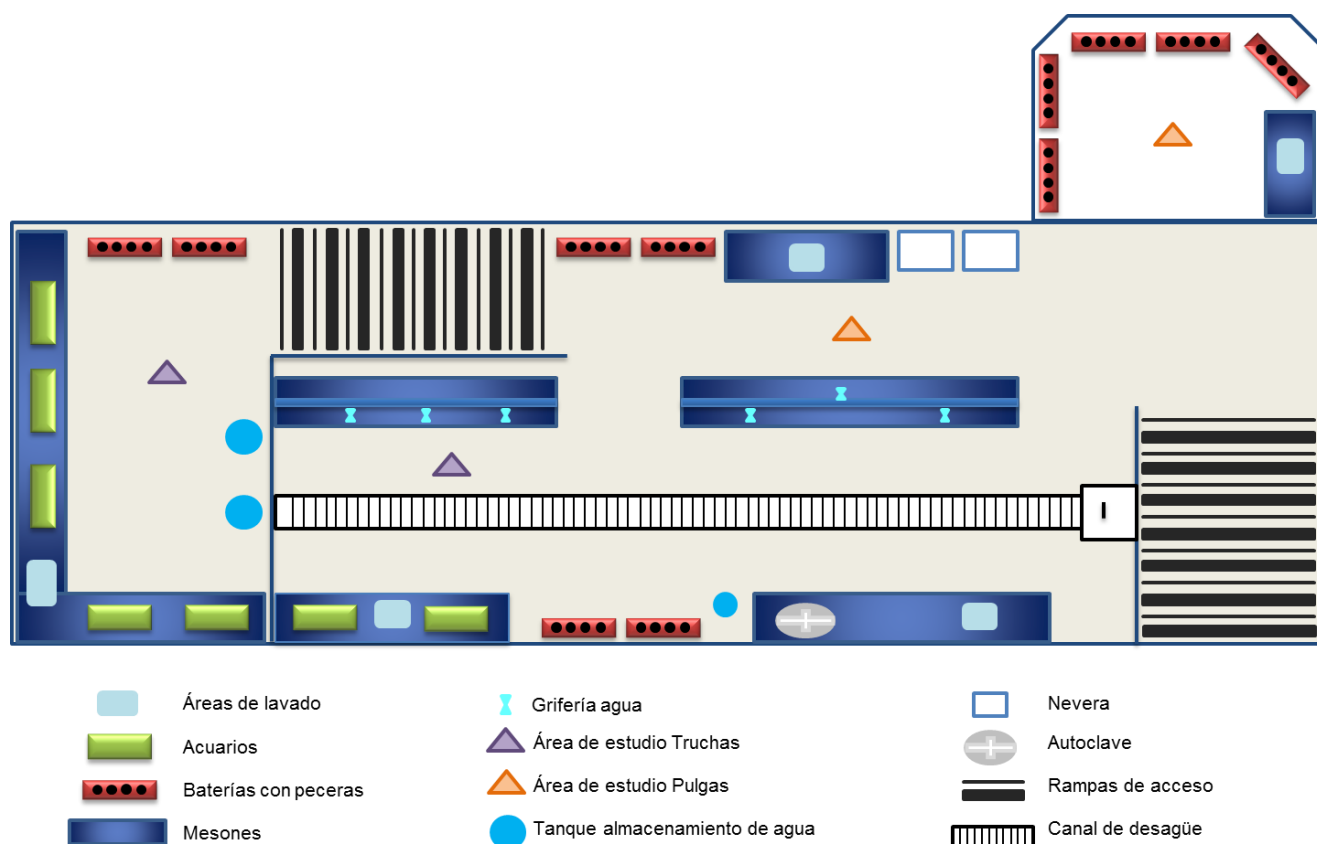
3.1 FASE I. ACONDICIONAMIENTO

3.1.1 Recinto experimental

Las pruebas de toxicidad se realizaron en el laboratorio de la Universidad de La Salle dotado con un sistema de ventilación (extracción y suministro de aire), mesones para la preparación de soluciones, para mediciones físico químicas y áreas de lavado.

Dentro de este recinto experimental se ubicaron dos estanterías cada una con 24 peceras de 2.5 litros, para realizar los ensayos; dos acuarios con capacidad de 100 litros para la aclimatación de los alevinos, un tanque de 200L con dos bombas sumergibles (1200L/h) en su interior para mantener agua aireada y libre de cloro. A continuación se mostrará un esquema del laboratorio de Bioensayos de La Universidad de La Salle.

Ilustración 4: Esquema Laboratorio de Bioensayos de la Universidad de La Salle



Fuente: Las autoras. 2010

3.1.2 Adquisición y transporte de alevinos

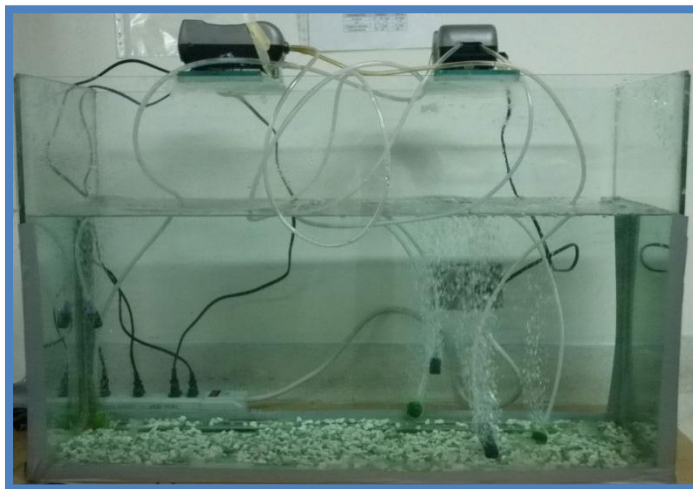
Los alevinos de trucha arcoíris se obtuvieron de la granja psícola SÚRALA S.A. en el municipio de Chocontá, Cundinamarca. Fueron transportados en bolsas de polietileno, calibre tres de 100x40 cm, con un promedio de 250 alevinos cada una, con suficiente oxígeno y en adecuado estado de salud.

3.1.3 Preparación y mantenimiento de acuarios

Los acuarios se adaptaron con el fin de garantizar condiciones óptimas para los alevinos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) utilizando los siguientes implementos:

- ♣ Aireadores mecánicos para airear por un periodo aproximado de 15 días. (Según los protocolos internacionales (CETESB LBp01)
- ♣ Mangueras y difusores
- ♣ Material de cubierta, para cubrir la parte superior de los acuarios con el fin de mantener el agua libre de partículas y vapores orgánicos volátiles.
- ♣ Agua declorinada, previamente aireada con una bomba sumergible (800 L/h).

Ilustración 5: Preparación de acuarios



Fuente: las autoras. 2010



Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.

Para garantizar estas condiciones se controlaron los siguientes parámetros:

PARÁMETRO	VALOR
Temperatura	$>14^{\circ}$
Oxígeno Disuelto	$>6\text{mg/L}$
pH	6.5 – 7.5 unidades

Tabla 6: Parámetros de control

El mantenimiento de los acuarios se realizó antes de introducir los alevinos y durante la permanencia de los mismos; limpiando con abundante agua, repetidas veces y sin utilizar ningún tipo de jabón o detergente.

3.1.4 Aclimatación de los alevinos

Los alevinos de Trucha Arco Iris son transportados a los acuarios en su respectiva bolsa de polietileno con oxígeno sellada. Posteriormente esta se sumerge en uno de los acuarios para estabilizar las temperaturas entre la bolsa y los acuarios por un tiempo aproximado de 1 hora (mínimo 45 minutos).

Consecutivamente los organismos son introducidos a los acuarios en una malla divididos en pequeños grupos; adicionalmente los acuarios se cubren con un plástico negro para evitar el estrés de los alevinos por el continuo movimiento de las personas y por la luz artificial del laboratorio de bioensayos.

Ilustración 6: Alevinos de Trucha Arco Iris



Fuente: las autoras. 2010



Es necesario realizar el conteo de los organismos para determinar la tasa de mortalidad antes de empezar con las pruebas de toxicidad. (Ver anexo N)

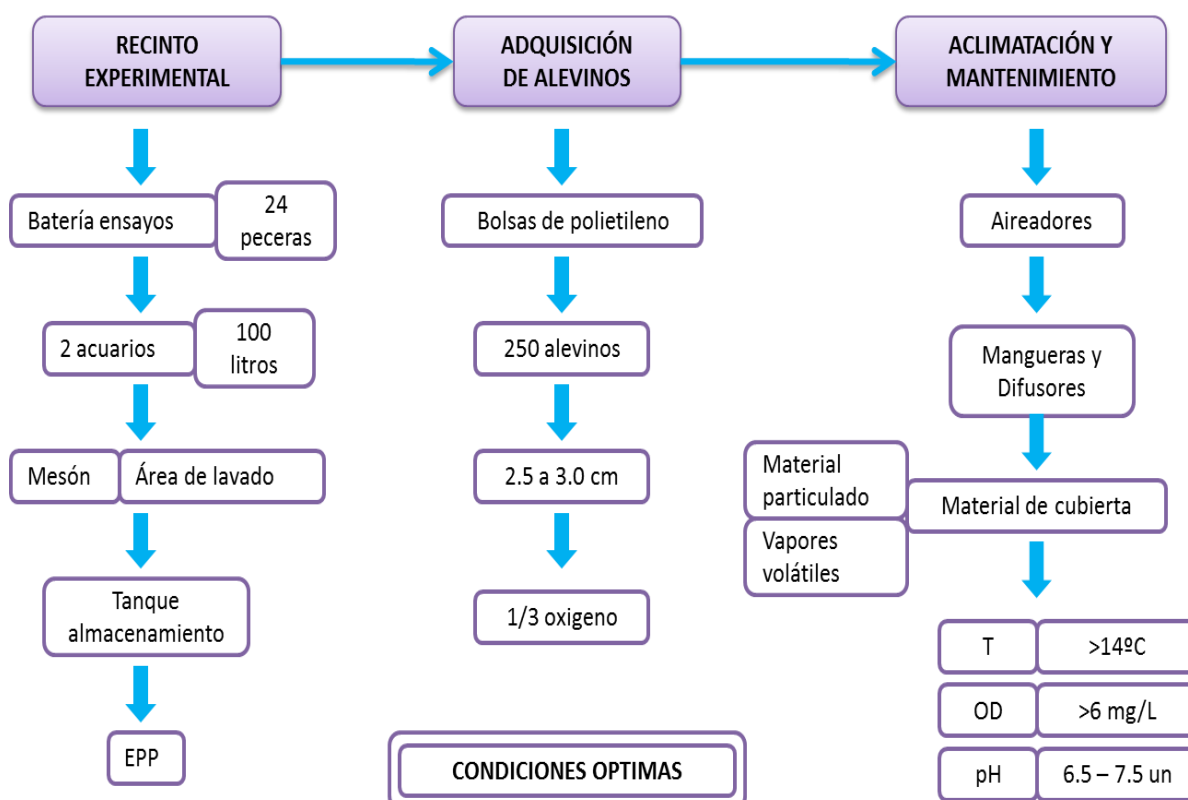
3.1.5 Alimentación

Los alevinos fueron alimentados dos veces al día (una vez en la mañana y una vez en la tarde) con Incros, comprados en casas de acuario en forma de pellets. Es necesario tener en cuenta que el alimento se suspendió 24 horas antes del inicio de cada prueba de toxicidad.

Los ingredientes principales de la comida “Incros” son harinas de pescado, camarones, avena, alfalfa, soya, germen de trigo, aceite de hígado de bacalao y un suplemento de vitaminas y minerales como: A, B1, B2, B6, C, D3, E y Omega 3.

A continuación se resume la Fase I de la metodología.

Diagrama 5: Fase I



Fuente: las autoras. 2010

3.2 FASE II. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

3.2.1 Preparación del agua de dilución

El agua que se empleó fue agua potable, permaneció aireándose (mediante bombas sumergibles) en un tanque de 200 L durante un periodo de 1 semana para declorinarla¹⁴ antes de iniciar las pruebas de toxicidad.

El agua estuvo bajo un control permanente de OD, pH y Temperatura cumpliendo con los parámetros establecidos por los protocolos de CETESB, como se mencionó anteriormente en la tabla 5.

Ilustración 7: Tanque almacenamiento de agua



Fuente: las autoras. 2010

3.2.2 Preparación de las soluciones con dicromato de potasio

El agua que se preparó se utilizó para las pruebas de sensibilidad que permitieron observar la capacidad de respuesta de los organismos. Posteriormente se realizaron 15 ensayos con dicromato de potasio (tóxico de referencia) donde se obtuvo el intervalo de concentración intermedio entre los valores del 0 y 100% de mortalidad.

¹⁴ DECLORINACIÓN: Eliminación parcial o total del cloro residual del agua por un proceso físico (aireación).

3.2.3 Montaje del ensayo toxicológico

En las pruebas de toxicidad se emplearon alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), con un tamaño aproximado de 2.5 a 3.5 cm y un peso de 1 gr.

El montaje se dispuso en estantes de 70 * 30 cm, donde se usaron 24 peceras de 2,5 L de capacidad; distribuidas por filas de 4 peceras en cada entrepaño. La primera fila de la batería fue utilizada para el blanco o control y cada una de las filas restantes representaba una concentración diferente expresada en ppm con dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), con el fin de determinar el rango de la (CL_{50-96}). Las concentraciones se disponen de menor a mayor, siendo la menor la que está debajo del blanco y la mayor la última de la fila del estante. (Ver anexo O)

Ilustración 8: Montaje ensayo toxicológico



Fuente: las autoras. 2010

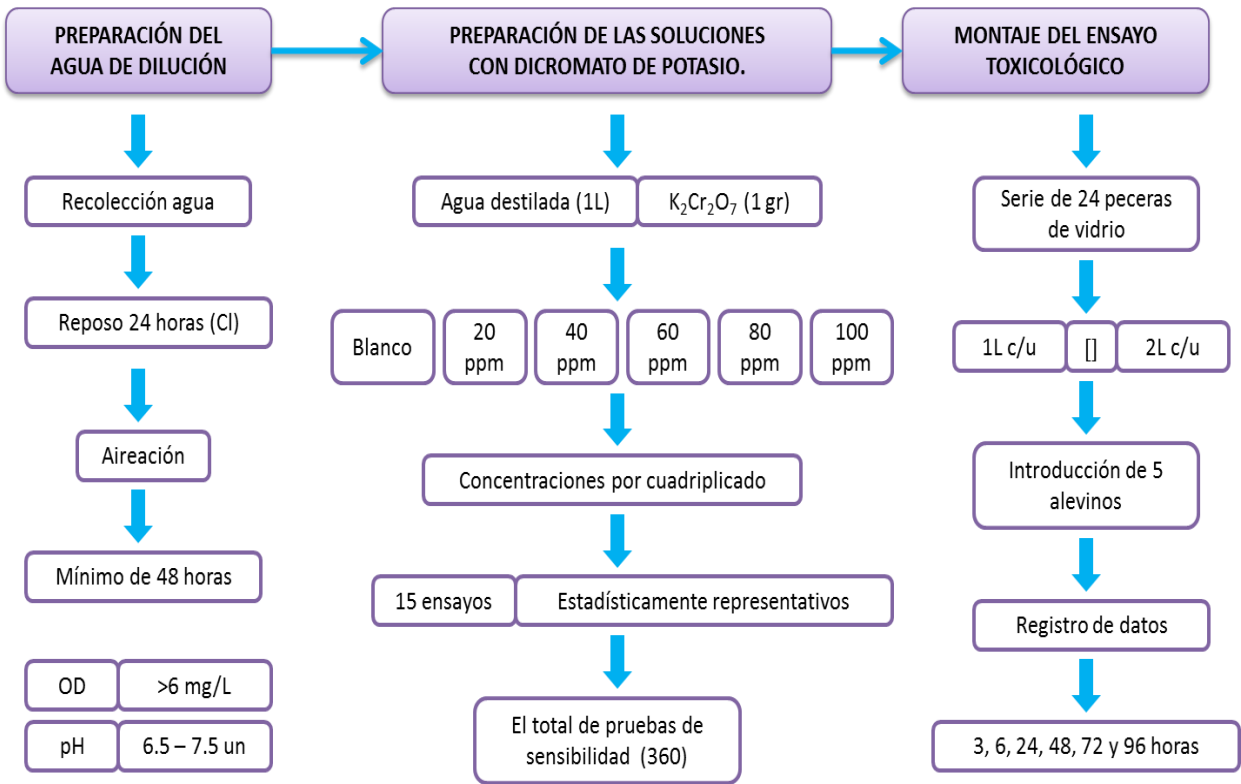


El montaje se replicó 15 veces, demostrando que los resultados fueron estadísticamente representativos. El total de las pruebas individuales de sensibilidad realizadas fueron 360.

3.2.4 Pruebas con dicromato de potasio

Para la realización de las pruebas preliminares de sensibilidad se preparó la solución madre, esta solución fue preparada tomando 1 gr de dicromato de potasio en 1L de agua destilada, lo que nos llevó a una concentración de 1000 ppm. Posteriormente se prepararon cinco concentraciones (20, 40, 60, 80, 100) ppm y un blanco o control (con agua libre de cloro), cada uno de ellos por cuadruplicado. La prueba se inició en el momento de introducir el último alevino en la última pecera de la batería de ensayo, utilizando un total de 120 alevinos por prueba, en un tiempo de exposición de 96 horas; la lectura de la prueba se realizó a las 3 horas, 6 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas y finalmente a las 96 horas, determinando así el porcentaje de mortalidad de los alevinos. A continuación se resume la Fase II de la metodología implementada.

Diagrama 6: Fase II



Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



3.3 FASE III. PRUEBAS PRELIMINARES Y DEFINITIVAS

3.3.1 Preparación del agua de dilución

El agua que se empleo fue agua potable, que permaneció aireándose con dos bombas sumergibles y dos aireadores que garantizaron la concentración de oxígeno en un tanque de 200 L durante un periodo de 1 semana para declorinarla antes de iniciar las pruebas de toxicidad.

El agua estuvo bajo control permanente de OD, pH y Temperatura cumpliendo con los parámetros establecidos por los protocolos de CETESB, como se mencionó anteriormente en la tabla 5.

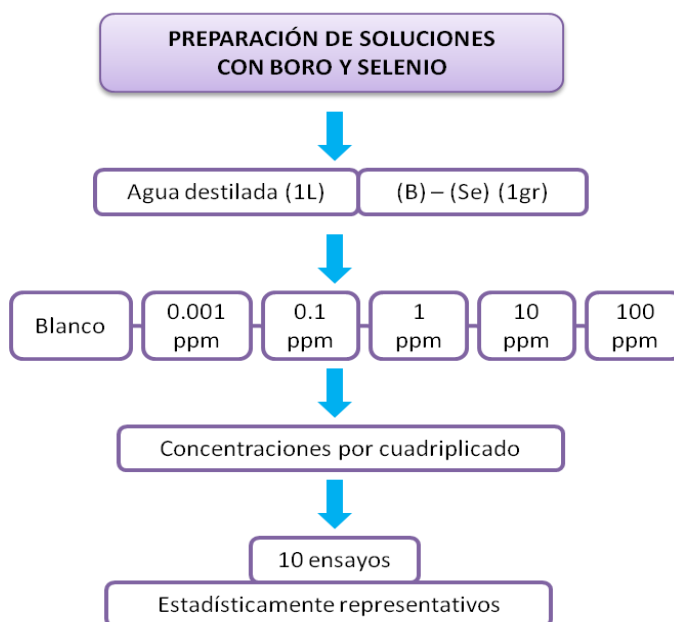
3.3.2 Preparación de las soluciones con Boro y Selenio

Para la preparación de las soluciones madre se utilizó el BORAX ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) y SELENITO DE SODIO (Na_2O_3Se), por lo tanto para preparar una solución de 1000 ppm se tuvo en cuenta el peso molecular y se calculó cuánto compuesto se necesitaba de Boro y de Selenio respectivamente.

Las concentraciones preliminares fueron preparadas teniendo en cuenta los rangos conocidos de anteriores investigaciones del agente tóxico y las concentraciones definitivas fueron preparadas teniendo en cuenta los resultados obtenidos de las pruebas preliminares. Luego se determinó el volumen de la solución necesario para obtener las concentraciones de 0.001, 0.1, 1, 10 y 100 (ppm). (Ver diagrama 4)



Diagrama 7: Fase III



Fuente: las autoras. 2010

3.3.3 Pruebas con boro y selenio

Para la determinación de la CL_{50-96} se realizaron 15 pruebas para cada sustancia a prueba divididas en una etapa preliminar y una etapa definitiva. Durante la etapa preliminar se trabajó con 5 concentraciones diferentes que fueron: 0.001 p.p.m., 0.1 p.p.m., 1 p.p.m., 10 p.p.m. y 100 p.p.m; en esta se observó el rango aproximado en el que se encuentra la CL_{50-96} para el Selenio y Boro, luego se delimitó un valor al cual se aproximaba y así se determinó un rango menor en el cual se encontraba la concentración letal para cada elemento (Boro y Selenio).

Para la obtención de la CL_{50-96} del Boro y el Selenio en los alevinos de Trucha Arcoíris se tuvo en cuenta diferentes concentraciones de los contaminantes para finalmente hallar en las que se mueren la mitad de los organismos presentes en la pecera; los datos obtenidos fueron tabulados en el formato establecido y graficados para su análisis.

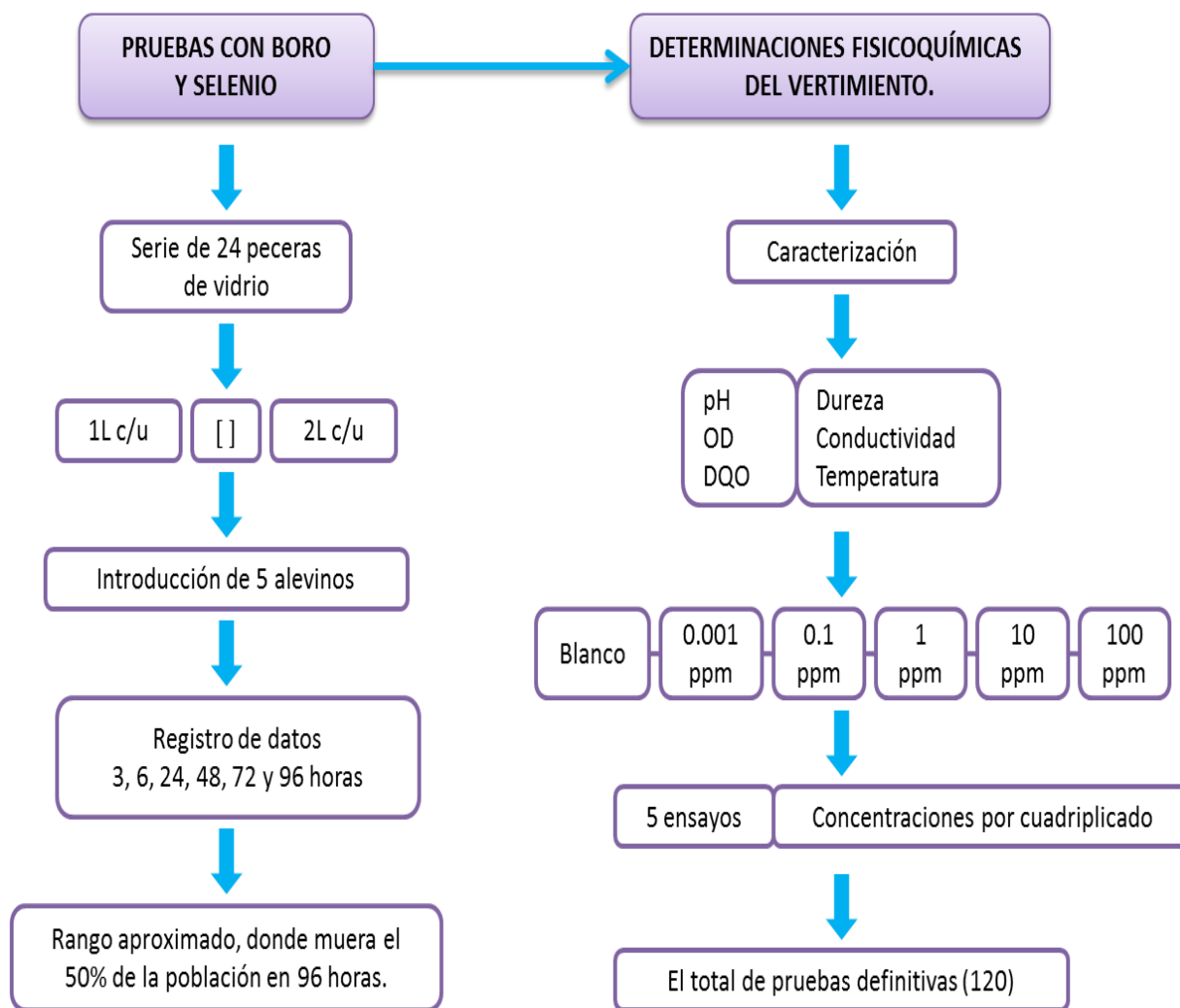
Adicionalmente por medio del programa PROBIT se determinaron los mínimos, máximos y la concentración letal para cada prueba ejecutada. (Ver anexo P)



3.3.4 Determinaciones fisicoquímicas del vertimiento

Se efectuaron cinco pruebas fisicoquímicas de los vertimientos determinando: oxígeno disuelto, dureza, conductividad, pH, temperatura, DQO, Selenio y Boro, efectuadas en una sola línea de concentración con sus cuatro replicas y un control. (Ver Diagrama 7).

Diagrama 8: Fase III



Fuente: las autoras. 2010



3.4 FASE IV. RESULTADOS

3.4.1 Aceptabilidad de los resultados

Los resultados de las pruebas definitivas fueron considerados válidos dentro de las siguientes condiciones:

- La concentración de oxígeno disuelto en las soluciones test durante el transcurso de ensayo debe ser mayor o igual al 60% de la saturación de la temperatura de ensayo.
- La concentración de la sustancia test no debe disminuir más de un 20% como máximo.
- La sensibilidad del grupo de peces ensayado se hallará dentro de $\pm 2DS$ respecto del valor medio para el tóxico de referencia para la misma especie test.

3.4.2 Determinación de la CL_{50-96}

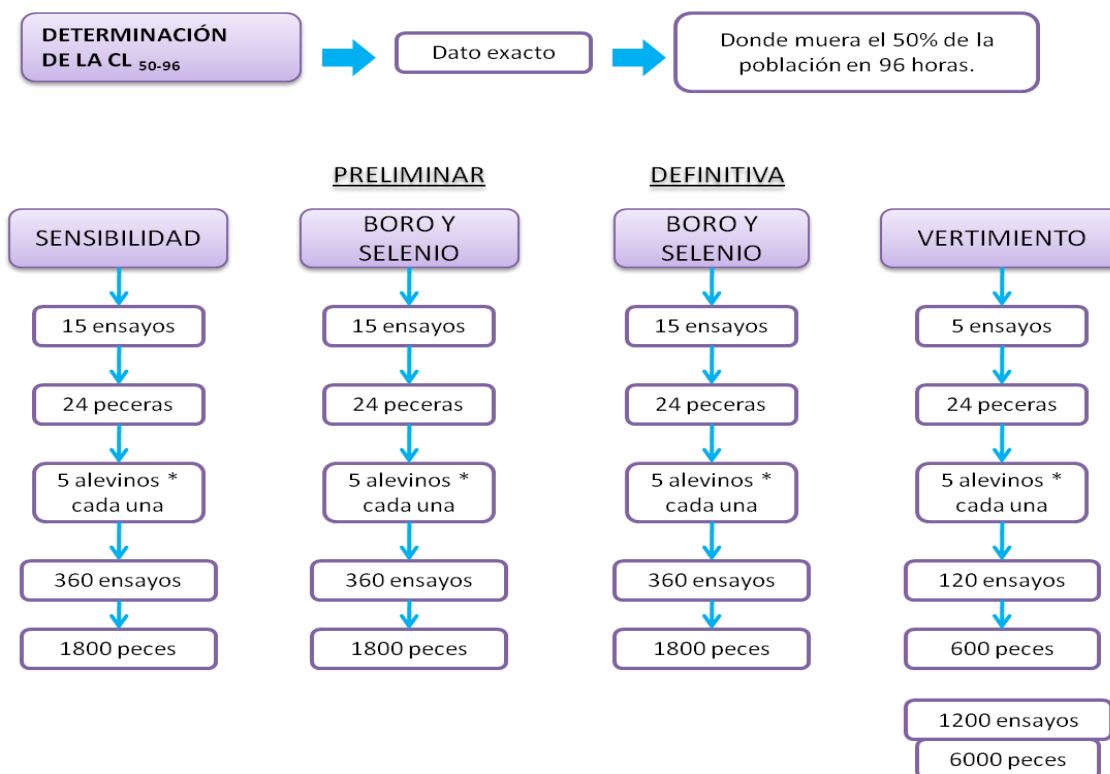
La forma más sencilla y válida para hallar la CL_{50} fue por interpolación gráfica a partir de un gráfico concentración – respuesta en una escala lineal. Una primera aproximación analítica fue obteniendo dicho valor mediante una regresión logarítmica. Si los datos disponibles para calcular la CL_{50} eran insuficientes, se registraba la mínima concentración que produce 100% de la mortalidad y la máxima que da 0% de mortalidad; entre los dos valores se encontrará la CL_{50} .

Teniendo en cuenta el procedimiento anterior, se ejecutaron 50 ensayos toxicológicos y un total de pruebas individuales de 1200 que resultan al sumar las pruebas que se hicieron para Boro, Selenio y Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) y la muestra ambiental. (Ver Diagrama 8)

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.

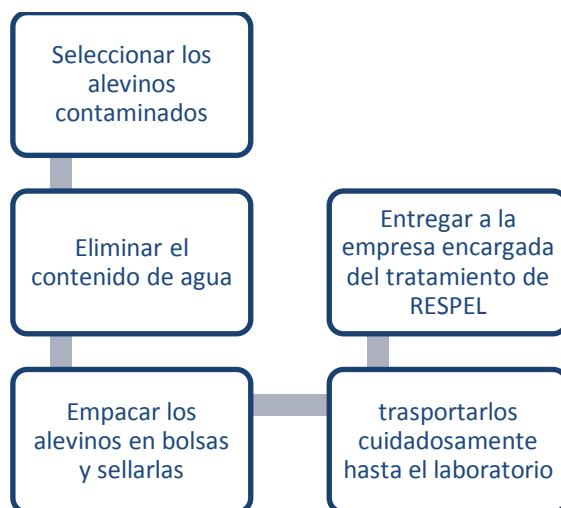


Diagrama 9: Fase IV



Fuente: las autoras. 2010

Disposición de los residuos generados



Fuente: las autoras. 2010



4. OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para el desarrollo y análisis de las pruebas de toxicidad con boro, selenio y dicromato de potasio (tóxico de referencia) sobre alevinos de Trucha Arco Iris, se implementó la metodología ya establecida CETESB (Brasil), la cual se ha venido trabajando por los grupos de investigación de Bioensayos del Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle, dirigido por el Químico – Biólogo Pedro Miguel Escobar Malaver; con el fin de mejorar la normatividad actual de Colombia en cuanto a vertimientos.

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el proyecto de investigación, calculados con una confiabilidad del 95% utilizando dos de los métodos de análisis estadísticos: Probit y ANOVA, de acuerdo a la metodología anteriormente descrita.

4.1 PRUEBAS TOXICOLÓGICAS CON DICROMATO DE POTASIO

4.1.1 Análisis Probit para las pruebas de sensibilidad con dicromato de potasio

Para demostrar la capacidad de respuesta (sensibilidad) de los alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) a los contaminantes, se determinó la concentración letal media (CL_{50-96}) de dicromato de potasio. Las concentraciones utilizadas para las pruebas de sensibilidad, están dentro de un rango de 0 ppm a 100 ppm, con intervalos de 20. (Ver anexo A)

El valor de la Concentración Letal Media (CL_{50-96}) se calculó con el método de análisis estadístico Probit (Ver anexo B), con estos resultados se realizó una carta de control con el valor promedio y los límites de confianza. (Ver tabla 7)



Tabla 7: Carta de control pruebas de Sensibilidad

Número prueba	CL_{50-96} mg/L	Límite Inferior	Límite Superior
1	65,36	52,14	86,78
2	68,43	54,93	91,75
3	59,75	43,59	88,00
4	47,34	34,29	61,39
5	50,90	43,30	58,88
6	51,42	43,86	59,17
7	52,50	45,32	59,47
8	52,34	45,51	58,98
9	43,57	18,48	69,72
10	51,57	43,51	59,94
11	52,07	45,19	58,88
12	54,44	43,68	67,10
13	53,70	46,88	60,15
14	50,90	43,30	58,88
15	46,66	39,85	53,66

Fuente: las autoras. 2010

Al analizar la tabla 4: carta de control de pruebas de sensibilidad se pudo observar que los valores de CL_{50-96} se encuentran entre un rango de (46,3 - 68,4) mg/L y ninguno supera los límites de confianza, confirmando que los alevinos siempre presentan sensibilidad dentro del rango, confirmando que las pruebas no presentaron fallas y que los parámetros (ver tabla 4) se controlaron de forma correcta.

Como resultado promedio de la concentración letal media (CL_{50-96}) de las pruebas de sensibilidad sobre alevinos de Trucha Arco Iris con el toxico de referencia (dicromato de potasio) se obtuvo:

Tabla 8: Resultados de pruebas de sensibilidad

Límite superior	66,18 mg/L
CL_{50-96}	53,40 mg/L
Límite inferior	42,92 mg/L

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



El resultado obtenido en esta investigación se comparó con resultados anteriores realizados por estudiantes de la Universidad de la Salle para verificar la veracidad de los mismos.

Tabla 9: Resultados de sensibilidad en investigaciones de La Universidad de la Salle

AÑO	REFERENCIA	INVESTIGADORES	CL50-96
2008	Determinación de CL_{50-96} de Cadmio y Aluminio mediante bioensayos con alevinos de Trucha Arco Iris.	Oscar Bernal Ángela Grijalba	56,43 mg/L
2008	Determinación de CL_{50-96} del Glifosato por medio de bioensayos utilizando alevinos de Trucha Arco Iris.	Patricia Barros Vilmar Gámez	54,07 mg/L
2008	Determinación de CL_{50-96} del Plomo y Níquel por medio de bioensayos sobre alevinos de Trucha Arco Iris.	Paula Ortiz Julián Agudelo	52,21 mg/L
2008	Determinación de CL_{50-96} de Mercurio y Cromo utilizando alevinos de Trucha Arco Iris.	Alejandra Duran Viviana Matías	55,98 mg/L
2009	Determinación de CL_{50-96} de Cobre y Zinc mediante pruebas toxicológicas utilizando alevinos de Trucha Arco Iris.	Juan Barreto Guillermo Peralta	59,70 mg/L
2009	Determinación de CL_{50-96} de Cianuro por medio de bioensayos sobre alevinos de Trucha Arco Iris.	Lenny Sánchez Aura Andrade	52,39 mg/L
2010	Determinación de CL_{50-96} de Plata mediante pruebas toxicológicas utilizando alevinos de Trucha Arco Iris.	Angélica Ramírez	48,83 mg/L
2010	Determinación de CL_{50-96} del Aluminio mediante pruebas toxicológicas utilizando alevinos de Trucha Arco Iris.	Ana Corpus	52,66 mg/L
2010	Determinación de CL_{50-96} de Hierro y Manganeseo mediante bioensayos utilizando alevinos de Trucha Arco Iris	Yenny Vásquez Daniel Calderón	49,21 mg/L
2010	Determinación de CL_{50-96} de Boro y Selenio sobre alevinos de Trucha Arco Iris mediante bioensayos.	Yulie Rivera Diana Molina	53,40 mg/L

Fuente: las autoras. 2010

Analizando la tabla 6 se pudo observar que el resultado arrojado en la presente investigación fue de (CL_{50-96} = 53,40mg/L) el cual se encuentra dentro del rango (50 ppm – 80 ppm) y es muy similar a los valores arrojados por las investigaciones anteriores, lo que verifica la

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



confiabilidad de los datos e indica la sensibilidad y capacidad de respuesta que tienen los organismos al dicromato de potasio.

Tabla 10: Resultados de sensibilidad en investigaciones Internacionales

AÑO	REFERENCIA	CL_{50-96}
2007	Programa de monitoreo ecotoxicológico de los efluentes industriales en el río Cruces ¹⁵ . CHILE	72,7 mg/L
2007	Niveles de toxicidad de químicos usados en operaciones de inmunizado ¹⁶ . USA	69,0 mg/L
2008	Estudio de adsorción para Cr (VI) utilizando chacay (<i>Ulex europaeus</i>) como carbón activo cubierto con quitosán. ¹⁷ CHILE	60,0 mg/L

Comparando los resultados de la tabla 7 y la tabla 8 se observó que las concentraciones letales medias (CL_{50-96}) obtenidas en diferentes investigaciones no superan 80ppm, corroborando los datos que se han obtenido en el laboratorio de bioensayos de la Universidad de la Salle.

¹⁵ http://www.sinia.cl/1292/articles-35166_Cap2.pdf

¹⁶ <http://webcache.googleusercontent.com>

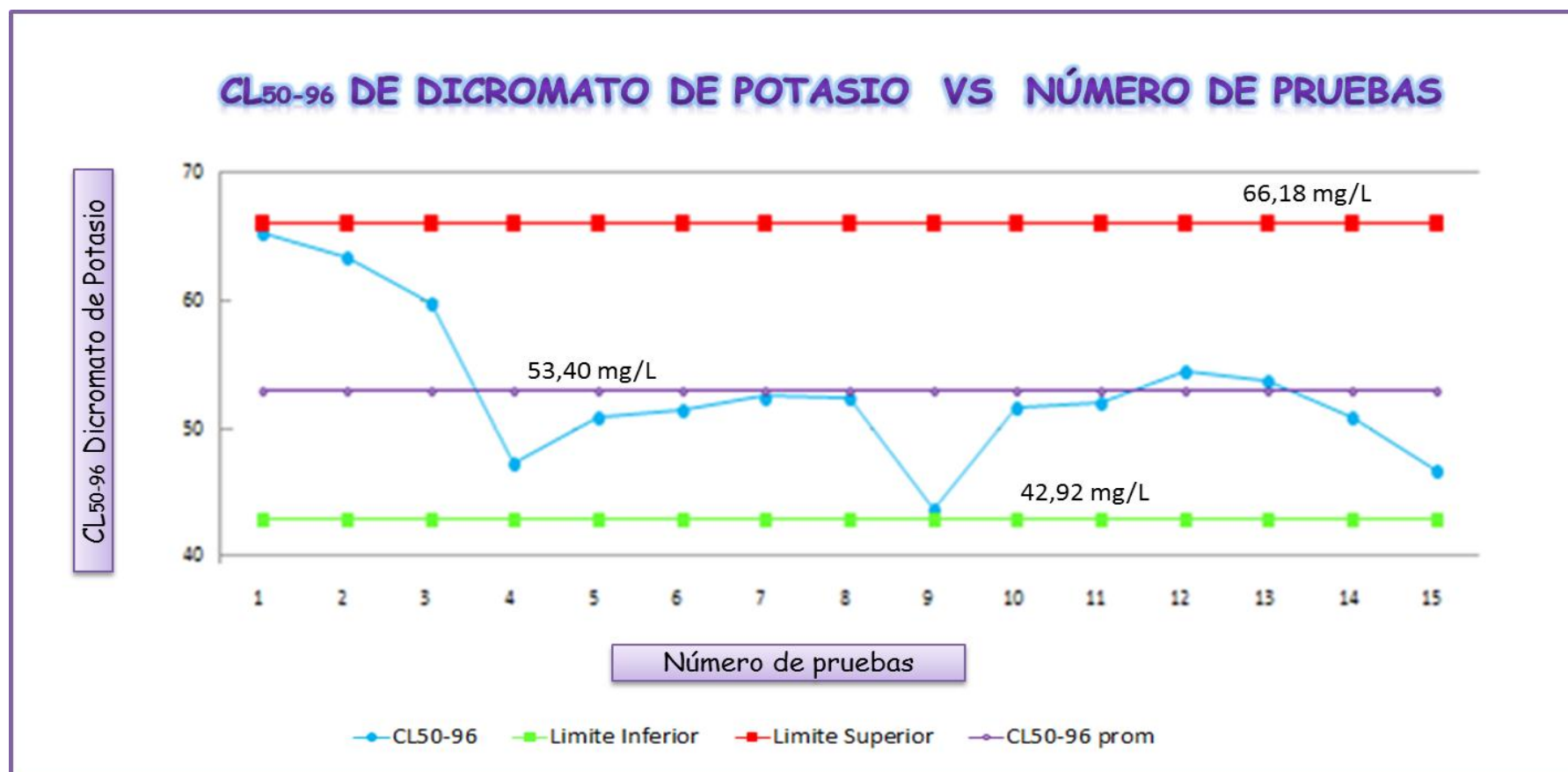
¹⁷ <http://www.scribd.com>

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



A continuación en la gráfica 1 se presenta la distribución de las sensibilidades de la carta de control obtenidas durante el tiempo de las pruebas, adicionalmente el promedio de la (CL_{50-96}) y sus respectivos límites.

Gráfica 1: Concentración letal media de sensibilidad con dicromato de potasio





En la gráfica 1 se puede observar la varianza de los resultados de las pruebas de sensibilidad con el toxico de referencia dicromato de potasio. En las primeras pruebas los organismos mostraron una sensibilidad por encima del promedio, posteriormente los alevinos fueron bajando su nivel de sensibilidad, observando que el punto más bajo es el correspondiente a la prueba número 9 con un valor de 18,48 mg/L; sin embargo en ningún momento supera el límite, lo que nos indica la autenticidad de los resultados.

4.1.2 Análisis ANOVA para las pruebas de sensibilidad con dicromato de potasio

Para obtener un análisis de varianza adecuado se siguió el protocolo LBP04 (*Ver anexo P*) “Análisis de varianza”, el cual se encuentra en el laboratorio de bioensayos de la facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle.

Se inicia postulando una hipótesis nula y una hipótesis de alternativas para la realización de la ANOVA, como se muestra a continuación:

H₀: Las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos.

H₁: Las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos.

Para el análisis del resultado se debe tener en cuenta la siguiente condición:

F_c > F_t: se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

F_c < F_t: se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.

En la tabla 7. Se presentan los resultados del análisis de varianza para las quince (15) pruebas con dicromato de potasio: (*Ver anexo C*)



Tabla 11: Resultados Análisis de varianza ANOVA para las pruebas de sensibilidad

PRUEBA	F CALCULADO	F TEÓRICO
1	7,86	2,77
2	7,94	
3	2,87	
4	11,40	
5	14,21	
6	14,77	
7	22,74	
8	30,85	

PRUEBA	F CALCULADO	F TEÓRICO
9	3,37	2,77
10	18,10	
11	21,00	
12	16,22	
13	52,82	
14	24,10	
15	15,93	

Fuente: las autoras. 2010

Como lo muestra la tabla 9, se observa que F calculado es mayor al F teórico, esto quiere decir, que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna. Se puede concluir que las diferentes concentraciones producen efectos diferentes en los organismos de prueba alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*), esto comprueba que al aumentar la concentración del dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) aumenta la mortalidad.



4.2 PRUEBAS DE TOXICIDAD CON BORO

4.2.1 Análisis Probit para las pruebas de toxicidad con boro (B)

Para demostrar la capacidad de respuesta de los alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) al Boro se determinó concentración letal media (CL_{50-96}).

Este valor se calculó con el método de análisis estadístico Probit, se realizó una carta de control con límites de confianza (Ver anexo D), las (CL_{50-96}) de las diferentes pruebas realizadas y se calculó el promedio para cada valor. (Ver tabla 11).

Pruebas preliminares:

Tabla 12: Carta de control pruebas preliminares con boro

PRUEBA	CL_{50-96} mg/L	Límite Inferior	Limite Superior
1	105	99,94	107,51
2	105,39	101,38	107,63
3	106,6	103,43	108,55
4	105,52	102,46	107,37
5	106,75	104,17	108,52
Promedio	105,85	101,99	108,02

Pruebas definitivas:

Tabla 13: Carta de control pruebas definitivas con boro

PRUEBA	CL_{50-96} mg/L	Límite Inferior	Limite Superior
1	104,82	99,94	105,93
2	105,34	102,36	106,54
3	105,80	104,24	106,81
4	105,39	102,20	106,65
5	105,48	101,22	106,98
6	105,15	102,33	106,25
7	105,55	102,50	106,81
8	104,62	101,80	104,62
9	104,32	100,60	105,36
10	105,51	104,45	106,26

Fuente: las autoras. 2010

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Al analizar la tabla 11. Carta de control de pruebas de Boro se observa que los valores de CL_{50-96} se encuentran entre un rango de 104,32 y 105,55 mg/L, sin superar los límites de confianza, confirmando que las pruebas no presentaron fallas y que los parámetros se controlaron de forma correcta. (Ver anexo E). En la tabla se presentan el promedio correspondiente a la concentración letal, el límite inferior y superior.

Tabla 14: Resultados de la Concentración letal media con boro

	CL 50-96 mg/L	Límite Inferior	Limite Superior
Promedio	105,19	102,16	106,22

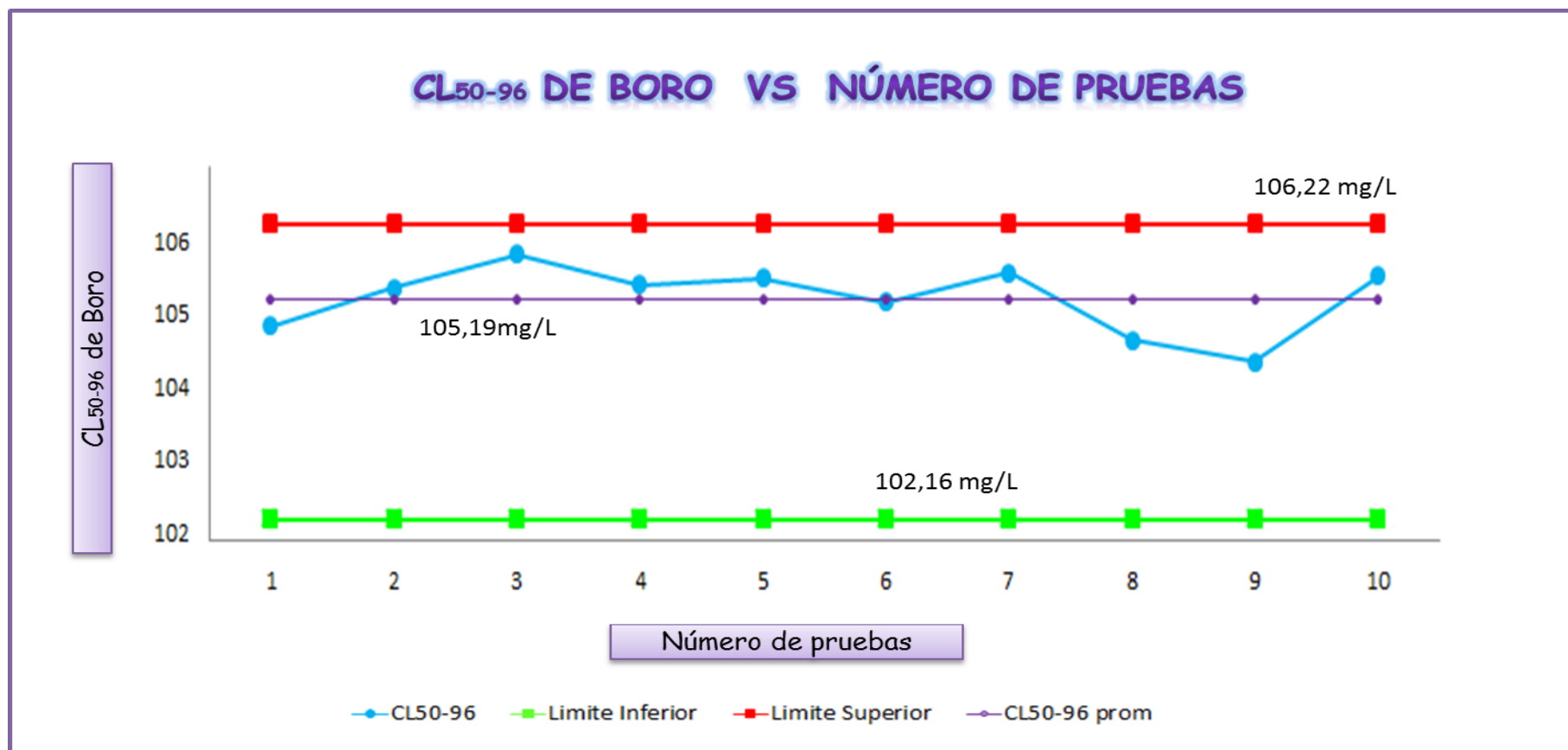
Fuente: las autoras. 2010

A continuación en la gráfica 3 se presenta la distribución de los resultados de la carta de control obtenidas durante el tiempo de las pruebas, adicionalmente el promedio de la (CL_{50-96}) y sus respectivos límites.

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Gráfica 2: Concentración Letal Media de boro





En la gráfica se observa que los valores de concentración letal media de las pruebas definitivas se encuentra en el rango de los límites de confianza (límite inferior de 102,16 mg B/L y límite superior de 106,22 mg B/L) determinados con Probit, lo que permite la validación de los datos obtenidos para el Boro.

4.2.2 Análisis ANOVA para las pruebas de toxicidad con boro (B)

Debido a que $F_c > F_t$ se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se toma la hipótesis alterna (H_1) donde a diferentes concentraciones producen efectos diferentes en los organismos de prueba. (Ver anexo F)

Tabla 15: Resultados Análisis de varianza ANOVA para dicromato de potasio

PRUEBA	F CALCULADO	F TEÓRICO
1	8,18	2,77
2	3,19	
3	3,01	
4	3,20	
5	3,43	
6	3,35	
7	3,51	
8	3,12	
9	5,63	
10	3,06	

Fuente: las autoras. 2010

A continuación se muestra una comparación de resultados frente a otros organismos utilizados para la determinación de la concentración letal media de Boro:

Tabla 16: Comparación de resultados

ESPECIE	DUREZA DEL AGUA	CL 50 (mg B/L)	
		BORAX	ACIDO BÓRICO
Pez de colores	Suave	65	46
	Dura	59	75

Determinación de la concentración letal media (CL₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



ESPECIE	DUREZA DEL AGUA	CL 50 (mg B/L)	
		BORAX	ACIDO BÓRICO
Trucha Arco Iris	Suave	27	100
	Dura	54	79
Bagre de canal	Suave	155	155
	Dura	71	22
Rana leopardo	Suave	47	139
	Dura	54	135

ORGANISMO	ACIDO BÓRICO (mg B/L)	REFERENCIA
Salmon (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	78,1 – 105	Hamilton &Buhl (1990)
Salmon(<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>)	105 – 127	Hamilton &Buhl (1990)
Carpita cabeza	332	Hamilton &Buhl (1990)

Fuente: <http://www.env.gov.bc.ca/wat/wq/BCguidelines/boron/boron.pdf>

La concentración letal media de Boro para los alevinos obtenida en la investigación se encuentra en el rango determinado por Hamilton &Buhl (1990) para las especies de organismos mencionadas en la tabla anterior, por consiguiente nos da mayor certeza en los datos obtenidos. Además que los resultados se ven afectados por la dureza del agua, del compuesto y organismo utilizado, en el desarrollo de las pruebas

4.3 PRUEBAS DE TOXICIDAD CON SELENIO

4.3.1 Análisis Probit para las pruebas de toxicidad con selenio (Se)

Para la realización de las pruebas de toxicidad con Selenio se emplearon Alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*), los cuales fueron expuestos a diferentes concentraciones durante un periodo de 96 horas, ya que está demostrado que en este tiempo la mortalidad de los organismos de prueba se da por la acción del tóxico y no por factores externos como inanición, pH, temperatura, OD y dureza entre otros.

Se realizaron 2 pruebas preliminares para determinar la concentración letal media CL₅₀₋₉₆, las concentraciones iniciales utilizadas fueron 0,001- 0,1- 1-10 y 100 ppm (Ver tabla 16), estos valores se tomaron con base en la escala que se encuentra en la metodología CETESB; con el resultado de estas pruebas se determinó el rango el cual oscilaba entre 1



y 10 ppm; posteriormente se realizaron 3 pruebas más para disminuir el rango, para esto se utilizaron concentraciones de 4, 6, 8, 10 y 12 ppm. (Ver tabla 17)

Tabla 17: Carta de control primeras pruebas preliminares con selenio

Número pruebas	CL_{50-96} mg/L	Límite Inferior	Límite Superior
1	2,81	1,60	4,97
2	1,61	0,62	4,01
Promedio	2,21	1,11	4,49

Tabla 18: Carta de control segundas pruebas preliminares con selenio

Número pruebas	CL_{50-96} mg/L	Límite Inferior	Límite Superior
1	3,80	1,60	5,45
2	4,35	1,48	6,42
3	4,21	1,57	6,13
Promedio	4,12	1,55	6,0

Fuente: las autoras. 2010

Basados en los resultados de las pruebas preliminares se obtuvo que el rango entre (4 - 5) ppm es el que muestra porcentajes cercanos al 50% de mortalidad; a partir de estos valores se realizaron las pruebas definitivas con el fin de verificar los datos y garantizar la uniformidad de los resultados. (Ver anexo G)

Una vez obtenidos los resultados de las 10 pruebas definitivas se determinó la Concentración Letal Media (CL_{50-96}), los Límites de Confianza Inferior (LCI) y Límites de Confianza Superior (LCS) a través del método de análisis estadístico Probit (Ver anexo H), para hallar la concentración letal media definitiva del Selenio se promediaron los resultados como se observa en la tabla 18 que se presenta a continuación:

Tabla 19: Carta de control pruebas definitivas con selenio

Numero pruebas	CL_{50-96} mg/L	Límite Inferior	Límite Superior
1	4,54	4,40	4,69
2	4,49	4,39	4,59
3	4,59	4,49	4,74
4	4,58	4,50	4,75
5	4,44	4,34	4,53

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Numero pruebas	CL_{50-96} mg/L	Límite Inferior	Límite Superior
6	4,43	4,34	4,52
7	4,41	4,32	4,49
8	4,46	4,36	4,57
9	4,48	4,36	4,61
10	4,44	4,35	4,53

Fuente: las autoras. 2010

Como resultado promedio de la concentración letal media (CL_{50-96}) de las pruebas de toxicidad sobre alevinos de Trucha Arco Iris con Selenio (Se) se obtuvo:

Tabla 20: Resultados pruebas con selenio

Límite superior	4,60 mg/L
CL_{50-96}	4,49 mg/L
Límite inferior	4,39 mg/L

Fuente: las autoras. 2010

El resultado obtenido en esta investigación se comparó con resultados de investigaciones anteriores para verificar la autenticidad de los mismos.

Tabla 21: Resultados sobre toxicidad del Selenio Internacionales

REFERENCIA	CL_{50-96}
Concentraciones de metales pesados en distintos compartimentos de lagos andinos de Patagonia Norte. Asociación Argentina de Ecología.	0.70 mg/L
Minera La Zanja S.R.L. Proyecto La Zanja. Levantamiento de Observaciones. Análisis de Tejido de Peces.	0,37 mg/L
The effects of selenium on the physiological stress response in fish (Selenio)	1,8 mg/L
The effects of selenium on the physiological stress response in fish (Selenato)	3,2 mg/L
The effects of selenium on the physiological stress response in fish (Selenito de sodio)	4,2 mg/L

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Al observar la tabla 20 se pudo determinar que la concentración letal media de selenio obtenida en la presente investigación (4,49 mg/L) es muy cercana al valor que arroja la investigación con selenito de sodio (4,2 mg/L); cabe notar que se utilizó el mismo compuesto químico para la realización de las pruebas de toxicidad.

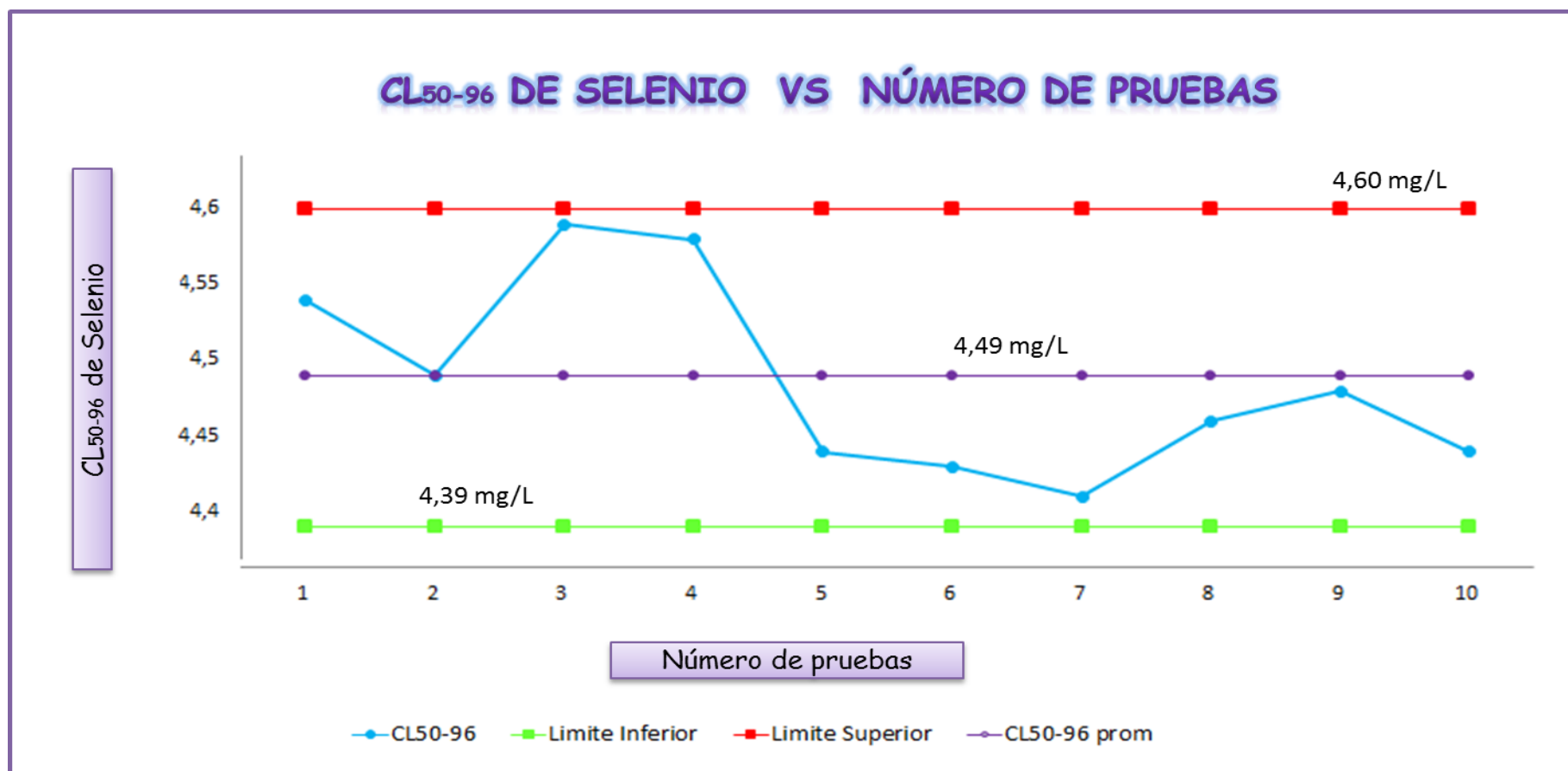
Sin embargo también se observa que los otros estudios relacionados no tienen ninguna cercanía al valor obtenido en la investigación, esto se debe posiblemente a los diferentes parámetros de control, la edad y la aclimatación de los alevinos.

A continuación en la gráfica 2 se presenta la distribución de los diez (10) resultados obtenidos durante el tiempo de las pruebas, adicionalmente el promedio de la (CL_{50-96}) del Selenio y sus respectivos límites.

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Gráfica 3: Concentración Letal Media de selenio





En la gráfica 3 podemos observar el comportamiento de cada una de las pruebas definitivas realizadas con selenio, notando que el punto más cercano al límite superior es la prueba número 3 con un valor de 4,74 mg/L y el punto más cercano al límite inferior es el de la prueba número 7 con un valor de 4,32 mg/L; sin embargo cabe resaltar que ningún valor obtenido en las pruebas supera los límites de confianza, lo que nos indica la veracidad de los mismos.

4.3.2 Análisis ANOVA para las pruebas de toxicidad con selenio (Se)

Debido a que $F_c > F_t$ se rechaza la Hipótesis nula (H_0) y se toma la hipótesis alterna (H_1) donde a diferentes concentraciones producen efectos diferentes en los organismos de prueba. (Ver anexo I)

Tabla 22: Resultados análisis Anova para selenio

PRUEBA	F Calculado	F Teórico
1	15,07	2,77
2	29,36	
3	21,17	
4	7,15	
5	11,83	
6	26,86	
7	60,6	
8	24,24	
9	31,28	
10	41,91	

Fuente: las autoras. 2010

Se pudo concluir que las diferentes concentraciones producen efectos diversos en los organismos de prueba alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*), esto comprueba que al aumentar la concentración del Selenio (Se) aumenta la mortalidad.

4.4 PRUEBAS DE TOXICIDAD CON EL VERTIMIENTO INDUSTRIAL

La muestra del vertimiento con selenio se obtuvo efluente de la planta de tratamiento de agua residual.

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Los resultados de los ensayos para las pruebas de toxicidad del vertimiento se obtuvieron de los datos que arrojaron las pruebas definitivas de toxicidad sobre alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*).

4.4.1 Análisis fisicoquímico del vertimiento

Se realizaron análisis in situ en la industria para tener una caracterización más compleja de la muestra de agua recolectada. (Ver tabla 23)

Tabla 23: Resultados parámetros In situ

PARÁMETRO IN SITU	VALOR
pH	9,4 unidades
Caudal	5,20 L/s
Temperatura	18,6 °C
Solidos Sedimentables	1,9 ml/L

Fuente: las autoras. 2010

Según lo recomendado por el (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater) las características para la toma de muestras se presentan a continuación:

Tabla 24: Recolección de muestras

PARÁMETRO	RECIPIENTE	PRESERVACIÓN	VOLUMEN DE MUESTRA
DQO	Frasco de vidrio ámbar	H ₂ SO ₄	500 ml
SST	Frasco de plástico	Refrigeración 4°C	1000ml
Selenio			

Luego se transportó la muestra del vertimiento industrial al laboratorio de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle, donde se realizaron los correspondientes análisis fisicoquímicos. (Ver tabla 25)



Tabla 25: Resultados del análisis fisicoquímico de la muestra de agua residual industrial

PARÁMETRO	VALOR	UNIDAD
DQO	1020	mg/L O ₂
DBO	538	mg/L O ₂
SST	1150	mg/L
SELENIO	2,69	mg/L
BORO	0,81	mg/L
CL₅₀₋₉₆	0,38	
TEMPERATURA	14	°C
pH	8.4	Unidades

Fuente: las autoras. 2010

El vertimiento de la industria de Tintas y Pinturas presenta un valor de DQO=1020 y DBO=538 lo que nos indica que es un agua residual industrial, también presenta un alto contenido de sólidos suspendidos los cuales causan daños sobre las branquias de los peces y por consecuencia impiden el intercambio gaseoso.

El selenio presente en la muestra de agua tiene un valor alto ya que la norma 1594 del 1984 establece un valor de 0,1 mg/L y el valor arrojado en los análisis fisicoquímicos se encuentra en 2,69 mg/L superando el nivel permitido en un 99%.

4.4.2 Determinación del porcentaje letal del vertimiento

Para la realización de las pruebas de toxicidad con el vertimiento el agua se ajustó a los parámetros de control establecidos en la tabla 5, para evitar que las pruebas arrojen valores erróneos o que los alevinos mueran por factores externos.

Posteriormente se realizaron pruebas preliminares con el vertimiento, pero fueron descartadas ya que en todos los rangos (20, 40, 60, 80 100%) se presentó la mortalidad total de los organismos expuestos. (Ver tabla 21)



Tabla 26: Resultados prueba preliminar 1 vertimiento

Porcentaje vertimiento	Mortalidad de los organismos				Porcentaje mortandad
20 %	5	5	5	5	100
40 %	5	5	5	5	100
60 %	5	5	5	5	100
80%	5	5	5	5	100
100 %	5	5	5	5	100
Blanco	0	0	0	0	0

Fuente: las autoras. 2010

Se realizaron nuevas pruebas preliminares disminuyendo los porcentajes de concentración. (Ver tabla 22)

Tabla 27: Resultados prueba preliminar 2 vertimiento

Porcentaje vertimiento	Mortalidad de los organismos				Porcentaje mortandad
2 %	5	5	5	5	100
3 %	5	5	5	5	100
4 %	5	5	5	5	100
5 %	5	5	5	5	100
10 %	5	5	5	5	100
Blanco	0	0	0	0	0

Fuente: las autoras. 2010

Las pruebas fueron nuevamente descartadas ya que se observó una mortalidad del 100% de los organismos expuestos al vertimiento.

Posteriormente se realizaron 5 pruebas para determinar la concentración letal media (CL_{50-96}) del vertimiento, teniendo en cuenta que este debe tener el mismo control de parámetros (ver tabla5) para garantizar la confiabilidad de los resultados.

Tabla 28 Prueba vertimiento

Porcentaje vertimiento	Mortalidad de los organismos				Porcentaje mortandad
0.2 %	0	0	1	0	5
0.4 %	3	2	4	3	60
0.6 %	5	4	2	5	80
0.8 %	5	4	5	5	95
1.0 %	5	5	5	5	100
Blanco	0	0	0	0	0

Fuente: las autoras. 2010



4.4.3 Análisis Probit para las pruebas de toxicidad con el vertimiento industrial

Una vez obtenidos los resultados de las 5 pruebas definitivas se determinó la Concentración Letal Media (CL_{50-96}), los Límites de Confianza Inferior (LCI) y Límites de Confianza Superior (LCS) a través del método de análisis estadístico Probit (Ver anexo H), ver la tabla que se presenta a continuación:

Tabla 29: Carta de control pruebas definitivas con vertimiento

Numero pruebas	CL_{50-96} mg/L	Límite Inferior	Límite Superior
1	0,37	0,31	0,43
2	0,42	0,35	0,50
3	0,35	0,28	0,42
4	0,4	0,34	0,46
5	0,38	0,32	0,44

Fuente: las autoras. 2010

Como resultado promedio de la concentración letal media (CL_{50-96}) de las pruebas de toxicidad sobre alevinos de Trucha Arco Iris con el vertimiento industrial se obtuvo:

Tabla 30: Resultados pruebas con selenio

Límite superior	0,45 mg/L
CL_{50-96}	0,38 mg/L
Límite inferior	0,32 mg/L

Fuente: las autoras. 2010

4.4.4 Análisis ANOVA para las pruebas de toxicidad con el vertimiento industrial

Debido a que $F_c > F_t$ se rechaza la Hipótesis nula (H_0) y se opta por la hipótesis alterna (H_1) donde a diferentes concentraciones producen efectos diferentes en los organismos de prueba, como se presenta en la siguiente tabla.

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Tabla 31: Resultados análisis Anova para el vertimiento

PRUEBA	F CALCULADO	F TEÓRICO
1	52,52	2,77
2	24,84	
3	73,16	
4	12,49	
5	37,07	

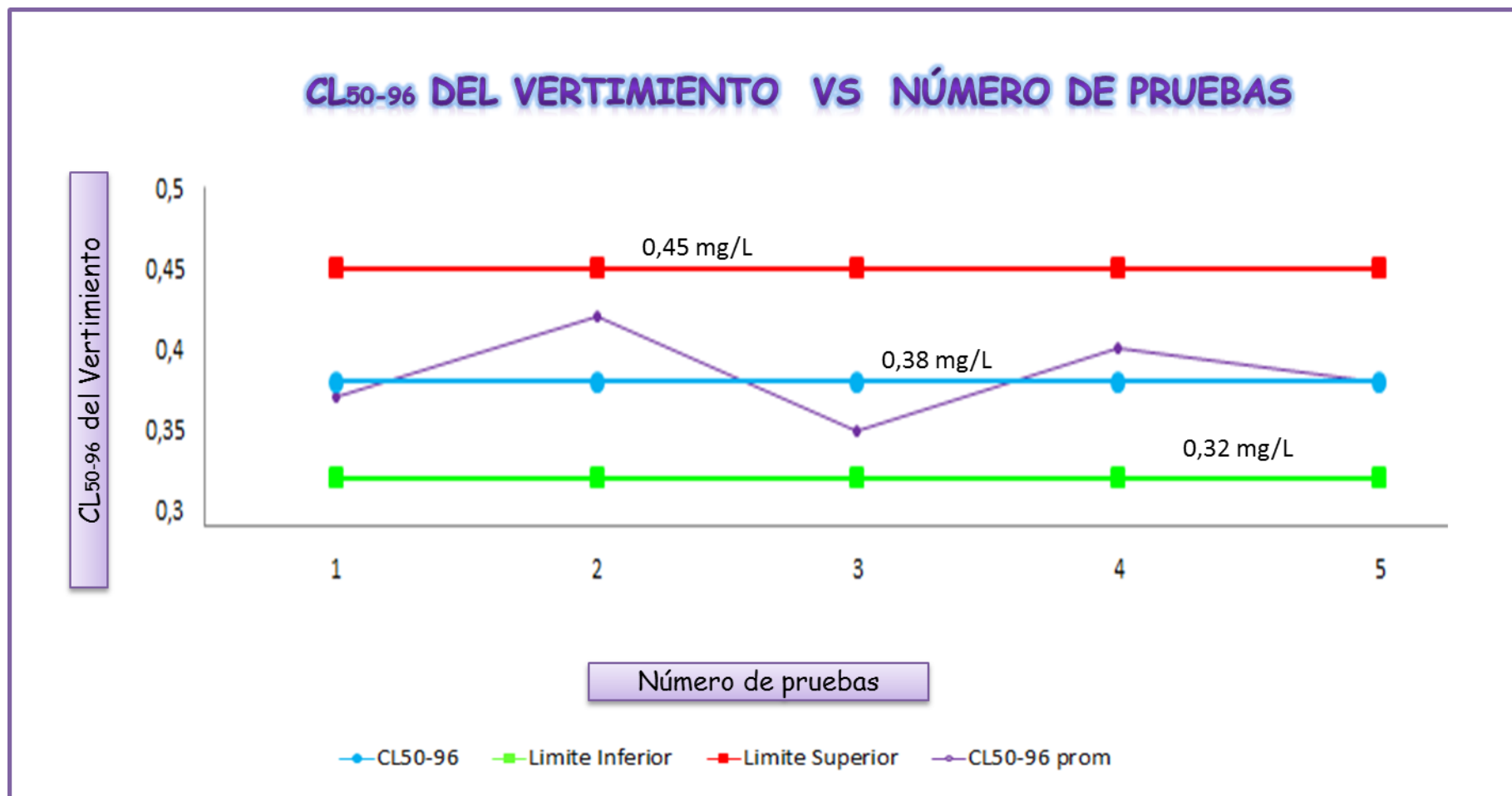
Fuente: las autoras. 2010

A continuación en la gráfica 4 se presenta la distribución de los cinco (5) resultados obtenidos durante el tiempo de las pruebas, adicionalmente el promedio de la (CL_{50-96}) del Vertimiento y sus respectivos límites.

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Gráfica 4: Concentración Letal Media del vertimiento





En la gráfica 4 podemos observar el comportamiento de cada una de las pruebas definitivas realizadas con el vertimiento, notando que el punto más cercano al límite superior es la prueba número 2 con un valor de 0,42 mg/L y el punto más cercano al límite inferior es el de la prueba número 3 con un valor de 0,35 mg/L; sin embargo cabe resaltar que ningún valor obtenido en las pruebas supera los límites de confianza, lo que nos indica la veracidad de los mismos.

5. OBTENCIÓN DE LA CARGA TÓXICA E ÍNDICE TOXICOLÓGICO

La carga e índice toxicológico se determinó con el fin de evaluar y clasificar el vertimiento que contiene Selenio y Boro.

Para el cálculo del índice toxicológico se contó con la información del nivel trófico afectado (*Oncorhynchus mykiss*), caudal del vertimiento industrial, concentración letal media del vertimiento y carga tóxica del efluente. Una vez conocida la toxicidad de los efluentes, es posible la estimación de su carga tóxica; por lo tanto, se puede estimar la contribución de cada una de las muestras del efluente con respecto a su cuerpo receptor.¹⁸

Esta evaluación es una herramienta útil para establecer prioridades para el control y tratamiento de los efluentes y por tanto la adopción de estrategias y decisiones sobre las acciones de control en el vertimiento.

Para el cálculo de la carga toxicológica se utiliza la siguiente ecuación:

$$\text{Carga tóxica (UT)} = \frac{100}{CL_{50-96}} * \bar{Q}$$

De la ecuación se tiene que:

- ♣ La carga tóxica se expresa en Unidades Tóxicas (UT).
- ♣ CL_{50-96} = Concentración Letal Media del efluente que produjo la muerte del 50% de los organismos expuestos en un periodo de 96 horas.

¹⁸ESCOBAR, MALAVER; Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *DaphniaPulex* para la evaluación de muestras ambientales.



♣ Q = Caudal promedio del efluente. (m³/día).

Con el cálculo y transformación logarítmica en base 10 de la carga tóxica se obtiene el índice toxicológico de la siguiente manera:

$$IT = \text{Log} (1 + UT)$$

5.1 Obtención carga toxicológica del vertimiento

Para poder determinar la carga toxicológica del vertimiento se tuvo en cuenta el caudal promedio de la industria 168,48(m³/día)

$$\text{Carga tóxica (UT)} = \frac{100}{CL_{50-96}} * \bar{Q}$$

$$\text{Carga tóxica (UT)} = \frac{100}{0,38} * 168,48m^3/dia$$

$$\text{Carga tóxica (UT)} = 640,22$$

5.2 Obtención del índice toxicológico del vertimiento

$$IT = \text{Log} (1 + UT)$$

$$IT = \text{Log} (1 + 640,22)$$

$$IT = 2,80$$

Con los valores obtenidos anteriormente se clasifico el vertimiento con carga toxica reducida ya que el valor obtenido se encuentra dentro del rango de (2 – 2.99), basándose en la escala establecida en la tesis “Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando Daphniapulex para la evaluación de muestras ambientales”. (Ver tabla 31).

Tabla 32: Rangos Índice Toxicológico

CARGA TOXICA	RANGOS
Despreciable	1-1,99
Reducida	2-2,99
Moderada	3-3,99
Considerable	4-4,99
Elevada	>5

Fuente: Escobar Malaver Pedro Miguel.



6. CONCLUSIONES

- ♣ El resultado de la (CL_{50-96}) promedio obtenido para las pruebas de sensibilidad con dicromato de potasio es de 53,4 mg/L, manejando un límite superior e inferior de 66,18 y 42,92 mg/L. estos valores concuerdan con los obtenidos en investigaciones anteriores con esta sustancia de referencia y utilizando alevinos de trucha arco iris. Además de garantizar la sensibilidad de estos, frente agentes contaminantes.
- ♣ La concentración letal media de selenio para los alevinos de trucha arco iris con un periodo de exposición de 96 horas es de 4,49 mg/L, manejando unos límites de confianza entre 4,6 y 4,39 mg/L.
- ♣ La concentración letal del Boro en la cual se muere el cincuenta por ciento de los alevinos de trucha arco iris en un tiempo de exposición de 96 horas es 105,19 mg/L, con un límite superior de 106,22 mg/L y un límite inferior de 102,16 mg/L.
- ♣ El porcentaje del vertimiento en el cual se muere el 50% de los organismo es de 0,38%, manejando unos límites de confianza en un rango de 0,32% y 0,45%, esto se debe a que el vertimiento contiene ambos elementos y otros metales pesados como níquel, hierro, cromo, entre otros que aumentan la toxicidad del mismo.
- ♣ Según el análisis de varianza (ANOVA) tanto para las pruebas de sensibilidad como para las pruebas definitivas de Selenio y Boro, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, ya que a diferentes concentración de la sustancia, se producen efectos diferentes a los alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*),
- ♣ El vertimiento tiene una carga tóxica de 640,22 y un índice de toxicidad de 2,80 por lo tanto se clasifica en toxicidad reducida. Según lo establecido en las investigaciones realizadas por el químico Pedro Miguel Malaver.



7. RECOMENDACIONES

- ♣ Seguir los protocolos establecidos y cumplir con los requisitos exigidos en el laboratorio, para obtener resultados fiables que sirvan de base para próximas investigaciones.
- ♣ Determinar la concentración letal media para las sustancias de interés sanitario, faltantes con alevinos de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*).
- ♣ Llevar control de los parámetros requeridos (pH, dureza y oxígeno disuelto) para la aclimatación de los alevinos y el agua de dilución.
- ♣ Determinar la concentración letal media de Selenio y Boro con otros organismos, con el fin de comparar resultados.
- ♣ Desarrollar las pruebas con cada contaminante por separado y limpiar cuidadosamente los materiales para cada prueba, con el fin de evitar la alteración de los resultados.



8. BIBLIOGRAFÍA

- ♣ ESCOBAR, Pedro Miguel, LONDOÑO Rubén Darío. Manual práctico de ensayos de toxicidad en medio acuático con organismos del género Daphnia.
- ♣ VALLEJO, María del Carmen, BAENA, Carlos Alberto. Toxicología ambiental, Bogotá : Wills Ltda , 2007
- ♣ MORENO Grau, María Dolores, Toxicología ambiental: evaluación de riesgo para la salud humana, Madrid: McGraw-Hill, 2003.
- ♣ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN, ICONTEC. Gestión ambiental: agua. Guía para la realización de ensayos de toxicidad en organismos acuáticos (Bioensayos). Bogotá D.C. 2000.
- ♣ DÍAZ BÁEZ, María Consuelo; BUSTOS LÓPEZ, Martha Cristina; ESPINOSA RAMÍREZ, Adriana Janneth. Pruebas De Toxicidad Acuática: Fundamentos Y Métodos. *Ingeniería e Investigación*. Universidad Nacional. 2009.
- ♣ ESCOBAR MALAVER Pedro Miguel (Enero- Junio 2009), Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando Daphnia Pulex para la evaluación de muestras ambientales. Revista Epsilon 12. 115-133.
- ♣ TOXICOLOGÍA AMBIENTAL. (Disponible en internet). En línea < <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/toxamb.pdf>>.[Citado el 10 de junio].
- ♣ NOCIONES BÁSICAS DE TOXICOLOGÍA. (Disponible en internet). En línea < <http://www.cepis.ops-oms.org/acrobat/nocio.pdf>> [Citado el 10 Junio].



- ♣ NEUSTON. (Disponible en internet). En línea <<http://www.drpez.com/diccionario/term/afad5ca55eacaeaa60,.xhtml>> [Citado el 12 Junio].
- ♣ ATSDR. Agencia para sustancias toxicas y el registro de enfermedades. P 2007. (Disponible en internet). En línea <http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs26.pdf>
- ♣ SELENIO. (Disponible en internet). En línea <<http://www.lenntech.es/periodica/elementos/se.htm#ixzz0yQhIPhTc>> [citado el 18 agosto]
- ♣ FISH, Mariana. Disección de una Trucha Arcoíris. (Disponible en internet). En línea <<http://riosclaros.blogspot.com/2007/10/trucha-arcoiris.ht>

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



ANEXOS

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



ANEXO A: CARTAS DE CONTROL PARA LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD CON DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$)

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°1

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 12/07/10

Finalización: 16/07/10

	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D			
20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2	20	10
40	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0	1	4	20	20
60	0	1	0	0	0	1	0	0	2	1	3	4	10	20	50
80	1	0	1	0	0	0	1	0	2	3	2	5	12	20	60
100	0	1	0	1	0	1	0	1	4	3	4	3	14	20	70
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 86,78

CL_{50-96} : Pb: 65,36

Limite inferior: 52,14

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°2

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 12/07/10

Finalización: 16/07/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2	20	10
40	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1	4	20	20
60	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3	2	8	20	40
80	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	3	4	11	20	55
100	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5	5	1	15	20	75
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 91,75

CL_{50-96} Pb: 63,43

Limite inferior: 54,93

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°3

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 12/07/10

Finalización: 16/07/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	4	20	20
40	2	0	1	0	2	0	1	0	2	3	1	1	7	20	35
60	3	0	0	0	3	0	0	0	5	0	2	1	8	20	40
80	0	1	0	0	0	1	0	0	5	1	1	5	12	20	60
100	3	0	0	2	3	0	0	2	5	0	5	5	15	20	75
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Límite superior: 88,00

Cl_{50-96} : Pb: 59,75

Límite inferior: 43,59

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°4

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 19/07/19

Finalización: 23/07/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	1	4	20	20
40	0	0	0	0	1	0	1	0	2	2	1	3	8	20	40
60	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2	4	2	12	20	60
80	0	0	0	0	0	0	1	0	4	2	5	3	14	20	70
100	0	0	0	0	1	0	0	0	3	4	4	5	16	20	80
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 61,39

$CL_{50-96}Pb$: 47,34

Limite inferior: 34,29

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°5

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 19/07/19

Finalización: 23/07/10

	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D			
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
40	0	1	0	1	0	2	0	1	0	1	4	3	8	20	40
60	1	1	0	0	1	1	0	2	2	3	2	5	12	20	60
80	1	1	2	1	1	1	2	1	4	3	5	3	15	20	75
100	1	0	0	2	1	4	0	3	5	4	5	5	19	20	95
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 58,88

CL₅₀₋₉₆:Pb: 50,90

Limite inferior: 43,30

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°6

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 19/07/19

Finalización: 23/07/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
20	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	20	0
40	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0	1	4	7	20	35
60	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2	3	3	12	20	60
80	0	1	0	0	0	1	0	0	5	3	5	4	17	20	85
100	0	0	0	0	0	0	0	0	5	3	5	5	18	20	90
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Límite superior: 59,17

Cl_{50-96} Pb: 51,42

Límite inferior: 43,86

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°7

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 26/07/10

Finalización: 30/07/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	20	5
40	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	4	20	20
60	0	0	0	0	0	2	0	0	1	2	2	5	10	20	50
80	0	0	0	0	0	0	3	0	4	5	4	5	18	20	90
100	0	0	0	0	2	0	4	0	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 59,47

CL_{50-96} : Pb: 52,50

Limite inferior: 45,32

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°8

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 26/07/10

Finalizacion: 30/07/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	3	6	20	30
60	0	0	0	0	0	0	1	0	4	3	3	1	11	20	55
80	0	0	0	0	1	0	1	2	4	4	5	4	17	20	85
100	0	0	0	0	0	2	1	0	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 58,94

CL₅₀₋₉₆:Pb: 52,34

Limite inferior: 45,51

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°9

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 26/07/10

Finalizacion: 30/07/10

Concentracion	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentracion	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	1	0	0	0	1	3	4	0	8	20	40
40	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2	4	7	20	35
60	0	0	0	0	0	1	0	0	4	1	5	1	11	20	55
80	0	0	0	0	1	0	0	0	3	4	1	4	12	20	60
100	0	0	0	0	0	0	0	2	4	5	3	4	16	20	80
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 69,72

Cl_{50-96} : Pb: 43,86

Limite inferior: 18,49

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°10

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 02/08/10

Finalización: 06/08/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	20	5
40	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	1	6	20	30
60	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3	0	4	11	20	55
80	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	4	5	16	20	80
100	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	4	5	19	20	95
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 59,97

CL_{50-96} : Pb: 51,57

Limite inferior: 43,16

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°11

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 02/08/10

Finalización: 06/08/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
40	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	3	6	20	30
60	0	0	0	0	0	1	0	0	4	4	2	2	12	20	60
80	0	1	0	1	0	1	0	2	5	4	3	4	16	20	80
100	0	0	1	0	2	1	2	1	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 58,88

CL₅₀₋₉₆:Pb: 52,07

Limite inferior: 45,19

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°12

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 02/08/10

Finalización: 06/08/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	3	20	15
40	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	3	6	20	30
60	0	0	1	0	1	1	1	1	2	2	2	2	8	20	40
80	0	1	0	1	1	1	0	2	2	4	3	4	13	20	65
100	1	0	1	0	2	1	2	1	5	5	4	5	19	20	95
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 67,10

CL₅₀₋₉₆: Pb: 54,44

Limite inferior: 43,68

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°13

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 09/08/10

Finalización: 13/08/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2	0	5	20	25
60	0	0	0	0	0	1	0	0	2	3	3	3	11	20	55
80	0	0	0	0	1	2	1	2	5	4	3	5	17	20	85
100	0	1	0	1	2	2	2	2	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 60,15

Cl_{50-96} Pb: 53,70

Limite inferior: 46,88

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°14

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 09/08/10

Finalización: 13/08/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
40	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	4	1	8	20	40
60	0	0	0	0	1	1	1	1	2	3	3	4	12	20	60
80	0	0	0	0	1	1	1	1	3	4	3	5	15	20	75
100	1	1	1	1	1	1	1	1	4	5	5	5	19	20	95
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Límite superior: 58,88

Cl_{50-96} : Pb: 50,90

Límite inferior: 43,30

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Sensibilidad N°15

Sustancia de prueba: Dicromato de potasio

Inicio: 09/08/10

Finalización: 13/08/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4	1	9	20	45
60	0	0	1	0	0	1	1	0	3	4	4	2	13	20	65
80	0	1	0	1	1	2	1	2	3	5	3	5	16	20	80
100	1	0	1	0	2	3	2	2	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 53,66

CL_{50-96} Pb: 46,66

Limite inferior: 39,85

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA



ANEXO B: OBTENCIÓN DE LA CL_{50-96} CON DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$) POR EL MÉTODO PROBIT.

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Sensibilidad N°1

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	2.	1.54
40.00	1.6021	20.	4.	5.55
60.00	1.7782	20.	10.	9.20
80.00	1.9031	20.	12.	11.94
100.00	2.0000	20.	14.	13.93
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-0.0732	
Pendenza (b) =	2.7946	es = 0.6403
Media delle X =	1.7660	
Media delle Y =	4.8620	
CHI quadro =	0.8807	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	9.6145	2.1468	17.3150
LC50	65.3671	52.1488	86.7806

Sensibilidad N°2

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	2.	1.33
40.00	1.6021	20.	4.	5.12
60.00	1.7782	20.	8.	8.72
80.00	1.9031	20.	11.	11.51
100.00	2.0000	20.	15.	13.57
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-0.2294	
Pendenza (b) =	2.8494	es = 0.6548
Media delle X =	1.7727	
Media delle Y =	4.8216	
CHI quadro =	1.3174	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	10.4439	2.4439	18.4446
LC50	68.4375	54.9310	91.7599

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Sensibilidad N°3

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	4.	3.34
40.00	1.6021	20.	7.	7.23
60.00	1.7782	20.	8.	10.02
80.00	1.9031	20.	12.	12.03
100.00	2.0000	20.	15.	13.50
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	1.3690	
Pendenza (b) =	2.0441	es = 0.5668
Media delle X =	1.7393	
Media delle Y =	4.9241	
CHI quadro =	1.5005	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	4.3481	0.2062	10.9421
LC50	59.7557	43.5913	88.0008

Sensibilidad N°4

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	4.	3.69
40.00	1.6021	20.	8.	8.61
60.00	1.7782	20.	12.	11.95
80.00	1.9031	20.	14.	14.16
100.00	2.0000	20.	16.	15.65
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	0.9708	
Pendenza (b) =	2.4051	es = 0.5724
Media delle X =	1.7240	
Media delle Y =	5.1172	
CHI quadro =	0.1503	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	5.1052	0.6420	11.0543
LC50	47.3405	34.2967	61.3924

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Sensibilidad N°5

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	0.	1.22
40.00	1.6021	20.	8.	7.25
60.00	1.7782	20.	12.	12.72
80.00	1.9031	20.	15.	16.02
100.00	2.0000	20.	19.	17.81
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-2.8344	
Pendenza (b) =	4.5903	es = 0.7116
Media delle X =	1.7405	
Media delle Y =	5.1551	
CHI quadro =	1.7380	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	15.8467	8.9624	21.7519
LC50	50.9009	43.3051	58.8893

Sensibilidad N°6

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	0.	0.78
40.00	1.6021	20.	7.	6.69
60.00	1.7782	20.	12.	12.75
80.00	1.9031	20.	17.	16.34
100.00	2.0000	20.	18.	18.18
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-3.3657	
Pendenza (b) =	4.8890	es = 0.7750
Media delle X =	1.7484	
Media delle Y =	5.1821	
CHI quadro =	0.7028	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	17.1914	9.8378	23.3394
LC50	51.4205	43.8674	59.1796

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Sensibilidad N°7

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	1.	0.42
40.00	1.6021	20.	4.	5.41
60.00	1.7782	20.	10.	11.73
80.00	1.9031	20.	18.	15.81
100.00	2.0000	20.	20.	17.94
Controllo		20.	0.	0.00
=====				
PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:				
(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)				
Intercetta (a) =	-4.4987			
Pendenza (b) =	5.5218	es = 0.8427		
Media delle X =	1.7700			
Media delle Y =	5.2751			
CHI quadro =	4.3634			
ALTRI PARAMETRI STATISTICI :				
Numero di punti =	5			
Gradi di libert... =	3			
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001		
Numero di cicli =	1			
=====				
END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)		
		inferiore	superiore	
LC1	19.9032	12.2412	26.1483	
LC50	52.5067	45.3242	59.4713	

Sensibilidad N°8

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	0.	0.33
40.00	1.6021	20.	6.	5.44
60.00	1.7782	20.	11.	12.23
80.00	1.9031	20.	17.	16.40
100.00	2.0000	20.	20.	18.40
Controllo		20.	0.	0.00
=====				
PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:				
(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)				
Intercetta (a) =	-5.2146			
Pendenza (b) =	5.9427	es = 0.8921		
Media delle X =	1.7669			
Media delle Y =	5.2856			
CHI quadro =	1.4722			
ALTRI PARAMETRI STATISTICI :				
Numero di punti =	5			
Gradi di libert... =	3			
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001		
Numero di cicli =	1			
=====				
END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)		
		inferiore	superiore	
LC1	21.2518	13.6212	27.3686	
LC50	52.3423	45.5158	58.9431	

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Sensibilidad N°9

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	8.	6.38
40.00	1.6021	20.	7.	9.56
60.00	1.7782	20.	11.	11.49
80.00	1.9031	20.	12.	12.81
100.00	2.0000	20.	16.	13.79
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	2.6881	
Pendenza (b) =	1.4079	es = 0.5270
Media delle X =	1.7166	
Media delle Y =	5.1049	
CHI quadro =	3.2511	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	0.9768	0.0000	5.4091
LC50	43.8645	18.4958	69.7272

Sensibilidad N°10

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	1.	0.66
40.00	1.6021	20.	6.	6.21
60.00	1.7782	20.	11.	12.29
80.00	1.9031	20.	16.	16.04
100.00	2.0000	20.	19.	18.00
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-2.7660	
Pendenza (b) =	4.5351	es = 0.7896
Media delle X =	1.7570	
Media delle Y =	5.2020	
CHI quadro =	1.0892	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	15.8294	7.9396	22.5002
LC50	51.5721	43.1639	59.9748

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Sensibilidad N°11

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	0.	0.53
40.00	1.6021	20.	6.	5.87
60.00	1.7782	20.	12.	12.12
80.00	1.9031	20.	16.	16.02
100.00	2.0000	20.	20.	18.04
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-4.5862	
Pendenza (b) =	5.5843	es = 0.8172
Media delle X =	1.7622	
Media delle Y =	5.2545	
CHI quadro =	1.1673	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	19.9554	12.7007	25.9079
LC50	52.0764	45.1948	58.8872

Sensibilidad N°12

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	3.	1.98
40.00	1.6021	20.	6.	6.75
60.00	1.7782	20.	8.	10.71
80.00	1.9031	20.	13.	13.47
100.00	2.0000	20.	19.	15.34
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-0.4225	
Pendenza (b) =	3.1237	es = 0.6234
Media delle X =	1.7494	
Media delle Y =	5.0419	
CHI quadro =	5.7692	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	9.7996	3.1046	16.4634
LC50	54.4433	43.6822	67.1031

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Sensibilidad N°13

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	0.	0.15
40.00	1.6021	20.	5.	4.58
60.00	1.7782	20.	11.	11.94
80.00	1.9031	20.	17.	16.56
100.00	2.0000	20.	20.	18.64
Controllo		20.	0.	0.00

=====

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-6.0954	
Pendenza (b) =	6.4133	es = 1.0027
Media delle X =	1.7773	
Media delle Y =	5.3029	
CHI quadro =	1.1269	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

=====

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	23.2982	15.0263	29.7037
LCS0	53.7093	46.8855	60.1547

Sensibilidad N°14

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	0.	1.22
40.00	1.6021	20.	8.	7.25
60.00	1.7782	20.	12.	12.72
80.00	1.9031	20.	15.	16.02
100.00	2.0000	20.	19.	17.81
Controllo		20.	0.	0.00
=====				
PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:				
(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)				
Intercetta (a) =	-2.8344			
Pendenza (b) =	4.5903	es = 0.7116		
Media delle X =	1.7405			
Media delle Y =	5.1551			
CHI quadro =	1.7380			
ALTRI PARAMETRI STATISTICI :				
Numero di punti =	5			
Gradi di libert... =	3			
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001		
Numero di cicli =	1			
=====				
END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)		
		inferiore	superiore	
LC1	15.8467	8.9624	21.7519	
LC50	50.9009	43.3051	58.8893	

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Sensibilidad N°15

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
20.00	1.3010	20.	0.	2.53
40.00	1.6021	20.	9.	8.77
60.00	1.7782	20.	13.	13.28
80.00	1.9031	20.	16.	15.95
100.00	2.0000	20.	20.	17.50
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-2.6311	
Pendenza (b) =	4.5724	es = 0.6298
Media delle X =	1.7182	
Media delle Y =	5.2252	
CHI quadro =	1.5841	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	14.4604	8.7508	19.5248
LC50	46.6607	39.8538	53.6649



ANEXO C: OBTENCIÓN DE LA CL50-96 CON DICROMATO DE POTASIO ($K_2Cr_2O_7$)

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SENSIBILIDAD N°1						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	1	0	1	0	2	0,5
40	0	3	0	1	4	1
60	2	1	3	4	10	2,5
80	2	3	2	5	12	3
100	4	3	4	3	14	3,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					42	10,5

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	41,5	5	8,3	7,86	2,77
Dentro de Grupos	19	18	1,06		
Total	60,5	23			

SENSIBILIDAD N°2						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	1	0	1	0	2	0,5
40	1	2	0	1	4	1
60	1	2	3	2	8	2
80	2	2	3	4	11	2,75
100	4	5	5	1	15	3,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					40	10

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	40,83	5	8,17	7,95	2,77
Dentro de Grupos	18,50	18	1,03		
Total	59,33	23			

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SENSIBILIDAD N°3						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	1	0	3	0	4	1
40	2	3	1	1	7	1
60	5	0	2	1	8	2
80	5	1	1	5	12	3
100	5	0	5	5	15	3,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					46	10,75

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	36,33	5	7,27	2,27	2,77
Dentro de Grupos	57,50	18	3,19		
Total	93,83	23			

SENSIBILIDAD N°4						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	0	2	1	1	4	1
40	2	2	1	3	8	1
60	4	2	4	2	12	3
80	4	2	5	3	14	3,5
100	3	4	4	5	16	4
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					54	12,5

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	47,5	5	9,5	11,4	2,77
Dentro de Grupos	15	18	0,83		
Total	62,5	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SENSIBILIDAD N°5						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	0	0	0	0	0	0
40	0	1	4	3	8	1
60	2	3	2	5	12	3
80	4	3	5	3	15	3,75
100	5	4	5	5	19	4,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					54	12,5

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77	5	15,4	14,22	2,77
Dentro de Grupos	19,5	18	1,08		
Total	96,5	23			

SENSIBILIDAD N°6						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	1	1	0	0	2	0,5
40	2	0	1	4	7	1
60	4	2	3	3	12	3
80	5	3	5	4	17	4,25
100	5	3	5	5	18	4,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					56	13,25

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	71,83	5	14,37	14,78	2,77
Dentro de Grupos	17,50	18	0,97		
Total	89,33	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SENSIBILIDAD N°7						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	0	1	0	0	1	0,25
40	2	0	2	0	4	1
60	1	2	2	5	10	2,5
80	4	5	4	5	18	4,5
100	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					53	13,25

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	93,21	5	18,64	22,75	2,77
Dentro de Grupos	14,75	18	0,82		
Total	107,96	23			

SENSIBILIDAD N°8						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	0	0	0	0	0	0
40	2	0	1	3	6	1
60	4	3	3	1	11	2,75
80	4	4	5	4	17	4,25
100	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					54	13

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	90	5	18	30,86	2,77
Dentro de Grupos	10,50	18	0,58		
Total	100,5	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SENSIBILIDAD N°9						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	1	3	4	0	8	2
40	0	1	2	4	7	1
60	4	1	5	1	11	2,75
80	3	4	1	4	12	3
100	4	5	3	4	16	4
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					54	12,75

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	37	5	7,4	3,37	2,77
Dentro de Grupos	39,5	18	2,19		
Total	76,5	23			

SENSIBILIDAD N°10						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	0	0	1	0	1	0,25
40	2	2	1	1	6	1
60	4	3	0	4	11	2,75
80	3	4	4	5	16	4
100	5	5	4	5	19	4,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					53	12,75

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	76,71	5	15,34	18,11	2,77
Dentro de Grupos	15,25	18	0,85		
Total	91,96	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SENSIBILIDAD N°11						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	0	0	0	0	0	0
40	0	3	0	3	6	1
60	4	4	2	2	12	3
80	5	4	3	4	16	4
100	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					54	13

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	87,5	5	17,5		
Dentro de Grupos	15	18	0,83	21	2,77
Total	102,5	23			

SENSIBILIDAD N°12						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	1	0	1	1	3	0,75
20	0	3	0	3	6	1
40	2	2	2	2	8	2
60	2	4	3	4	13	3,25
80	5	5	4	5	19	4,75
100	0	0	0	0	0	0
TOTAL					49	11,75

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	59,71	5	11,94		
Dentro de Grupos	13,25	18	0,74	16,22	2,77
Total	72,96	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SENSIBILIDAD N°13						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	2	2	0	5	1
60	2	3	3	3	11	2,75
80	5	4	3	5	17	4,25
100	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					53	13

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	91,71	5	18,34	52,82	2,77
Dentro de Grupos	6,25	18	0,35		
Total	97,96	23			

SENSIBILIDAD N°14						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	0	0	0	0	0	0
40	1	2	4	1	8	1
60	2	3	3	4	12	3
80	3	4	3	5	15	3,75
100	4	5	5	5	19	4,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					54	12,5

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77	5	15,4	24,10	2,77
Dentro de Grupos	11,5	18	0,64		
Total	88,5	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SENSIBILIDAD N°15						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
20	0	0	0	0	0	0
40	4	0	4	1	9	1
60	3	4	4	2	13	3,25
80	3	5	3	5	16	4
100	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					58	13,25

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	86,33	5	17,27	15,94	2,77
Dentro de Grupos	19,50	18	1,08		
Total	105,83	23			

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



ANEXO D: CARTAS DE CONTROL PARA LAS PRUEBAS DE TOXICIDAD CON BORO.

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Boro N°1

Sustancia de prueba: Boro

Inicio: 30/08/10

Finalización: 03/09/10

Concentración ppm	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
104	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
104	1	0	0	0	1	0	2	0	2	2	3	1	8	20	40
105	0	0	0	0	0	1	2	0	2	3	2	4	11	20	55
106	0	0	0	0	1	0	1	0	4	2	3	3	12	20	60
107	0	1	0	0	2	1	0	1	2	3	4	5	14	20	70
108	1	0	1	0	2	1	2	1	2	4	4	5	15	20	75
Control	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 105,93 mg/L

CL_{50-96} : Pb: 104,82 mg/L

Limite inferior: 99.94 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Boro N°2

Sustancia de prueba: Boro

Inicio: 30/08/10

Finalización: 03/09/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
104	2	0	1	0	2	0	4	2	2	0	4	2	8	20	40
105	0	2	0	1	0	2	3	3	1	2	5	3	11	20	55
106	1	2	0	3	3	2	1	3	5	2	2	3	12	20	60
107	2	1	1	1	2	1	3	1	2	3	5	4	14	20	70
108	3	2	1	3	5	2	3	3	5	2	5	4	16	20	80
Control	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	2	20	10

Limite superior: 106.54mg/L

Cl_{50-96} Pb: 105.34mg/L

Limite inferior: 102.36mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Boro N°3

Sustancia de prueba: Boro

Inicio: 06/09/10

Finalización: 10/09/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
104	0	0	3	0	2	0	3	1	2	0	3	1	6	20	30
105	0	2	0	1	0	4	0	3	2	4	0	3	9	20	45
106	4	0	3	0	4	1	5	0	5	3	5	0	13	20	65
107	1	0	3	2	3	1	5	2	3	3	5	2	13	20	65
108	3	0	2	1	5	1	4	1	5	3	5	3	16	20	80
Control	0	1	0	0	0	1	2	0	0	1	1	0	2	20	10

Limite superior: 106,81mg/L

Cl_{50-96} : Pb: 105,80mg/L

Limite inferior: 104.24mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Boro N°4

Sustancia de prueba: Boro

Inicio: 06/09/10

Finalización: 10/09/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
104	1	1	1	1	1	3	4	1	1	3	4	1	9	20	45
105	0	0	0	2	2	3	3	2	2	3	3	2	10	20	50
106	2	1	2	1	4	1	5	3	4	1	5	3	13	20	65
107	3	1	0	3	3	4	1	5	3	4	3	5	15	20	75
108	2	3	4	2	3	5	5	2	4	5	5	2	16	20	80
Control	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	3	20	15

Limite superior: 106,65mg/L

Cl_{50-96} Pb: 105.39mg/L

Limite inferior: 102.20mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Boro N°5

Sustancia de prueba: Boro

Inicio: 13/09/10

Finalización: 17/09/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
104	0	3	3	0	2	3	3	0	2	3	3	0	8	20	40
105	0	2	0	3	1	2	0	5	1	2	0	5	8	20	40
106	0	5	2	1	2	5	2	3	2	5	2	3	12	20	60
107	1	1	2	3	3	1	2	4	3	1	4	4	12	20	60
108	2	2	2	2	4	4	3	3	4	4	3	3	14	20	70
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 106.98 mg/L

Cl_{50-96} Pb: 105,48 mg/L

Limite inferior: 101,22 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Boro N°6

Sustancia de prueba: Boro

Inicio: 13/09/10

Finalización: 17/09/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
104	1	0	0	2	1	0	4	2	1	0	4	2	7	20	35
105	0	2	2	0	0	2	2	0	0	4	5	3	12	20	60
106	1	0	2	3	3	0	5	3	3	3	5	3	14	20	70
107	2	1	0	5	5	1	0	5	5	2	2	5	14	20	70
108	4	2	1	2	4	4	1	3	4	5	4	3	16	20	80
Control	0	1	2	0	0	1	2	0	1	1	0	0	2	20	10

Limite superior: 106,25 mg/L

Cl_{50-96} : Pb: 105,15 mg/L

Limite inferior: 102,33 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Boro N°7

Sustancia de prueba: Boro

Inicio: 13/09/10

Finalización: 17/09/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
104	3	0	0	2	3	0	2	2	3	0	3	2	8	20	40
105	0	2	0	3	1	3	2	3	1	3	4	4	12	20	60
106	2	2	2	2	2	4	3	2	3	4	3	2	12	20	60
107	1	2	0	4	3	4	0	4	5	5	2	4	16	20	80
108	3	5	5	2	3	5	5	3	3	5	5	3	16	20	80
Control	0	0	0	0	2	0	2	0	2	0	2	0	4	20	20

Limite superior: 106,81 mg/L

Cl_{50-96} : Pb: 105,55 mg/L

Limite inferior: 102,50 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Boro N°8

Sustancia de prueba: Boro

Inicio: 20/09/10

Finalización: 24/09/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
104	0	3	0	2	0	5	0	4	0	5	0	4	9	20	45
105	1	0	3	4	3	0	4	5	3	0	4	4	11	20	55
106	3	1	1	3	4	1	1	4	4	1	3	4	12	20	60
107	2	3	2	2	4	3	2	4	5	3	2	5	15	20	75
108	3	3	2	3	3	5	2	5	5	5	2	5	17	20	85
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 104,62 mg/L

Cl₅₀₋₉₆Pb: 104,62 mg/L

Limite inferior: 101,80 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Boro N°9

Sustancia de prueba: BORO

Inicio: 20/09/10

Finalización: 24/09/10

Concentración ppm	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
104	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	1
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
104	2	0	1	0	2	0	1	2	4	0	3	2	9	20	45
105	3	1	1	2	5	1	1	2	5	2	3	3	13	20	65
106	0	1	2	0	2	3	4	0	2	5	4	3	14	20	70
107	1	0	3	3	2	0	4	4	4	2	5	5	16	20	80
108	5	2	1	1	5	4	2	1	5	5	3	4	17	20	85
Control	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	20	5

Limite superior: 105,36 mg/L

CL_{50-96} Pb: 104,32 mg/L

Limite inferior: 100,60 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Boro N°10

Sustancia de prueba: Boro

Inicio: 20/09/10

Finalización: 24/09/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
106	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
104	0	2	1	0	2	2	1	0	2	2	1	0	5	20	25
105	1	0	3	2	1	0	5	2	1	0	5	4	10	20	50
106	2	0	0	3	4	1	0	3	4	2	0	5	11	20	55
107	0	2	2	2	1	4	2	2	1	5	3	5	14	20	70
108	2	3	3	3	2	3	5	5	2	4	5	5	16	20	80
Control	1	0	0	2	1	0	0	2	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 106,26 mg/L

Cl_{50-96} Pb: 105,51 mg/L

Limite inferior: 104,45 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



ANEXO E: OBTENCIÓN DE LA CL_{50-96} CON BORO POR EL MÉTODO PROBIT.

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Boro N°1

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
104.00	2.0170	20.	8.	8.50
105.00	2.0212	20.	11.	10.32
106.00	2.0253	20.	12.	12.11
107.00	2.0294	20.	14.	13.78
108.00	2.0334	20.	15.	15.26
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-106.6436	
Pendenza (b) =	55.2567	es = *****
Media delle X =	2.0249	
Media delle Y =	5.2466	
CHI quadro =	0.1758	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	95.1380	61.5543	99.8530
LC50	104.8224	99.9442	105.9348

Boro N°2

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
104.00	2.0170	20.	8.	8.32
105.00	2.0212	20.	11.	10.30
106.00	2.0253	20.	12.	12.31
107.00	2.0294	20.	14.	14.21
108.00	2.0334	20.	16.	15.86
Controllo		20.	2.	2.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-133.4238	
Pendenza (b) =	68.4379	es = *****
Media delle X =	2.0252	
Media delle Y =	5.1800	
CHI quadro =	0.1567	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0998	es = 0.0670
Numero di cicli =	2	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	97.4150	76.8169	101.1095
LC50	105.3458	102.3692	106.5474

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Boro N°3

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
108.00	2.0334	20.	16.	16.03
107.00	2.0294	20.	13.	13.93
106.00	2.0253	20.	13.	11.48
105.00	2.0212	20.	9.	8.94
104.00	2.0170	20.	6.	6.62
Controllo		20.	2.	1.96

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -170.5024
Pendenza (b) = 86.6890 es = *****
Media delle X = 2.0255
Media delle Y = 5.0900
CHI quadro = 0.7701

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0978 es = 0.0662
Numero di cicli = 2

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	99.4654	89.4831	102.0999
LC50	105.8052	104.2475	106.8194

Boro N°4

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
104.00	2.0170	20.	9.	8.74
105.00	2.0212	20.	10.	10.70
106.00	2.0253	20.	13.	12.72
107.00	2.0294	20.	15.	14.61
108.00	2.0334	20.	16.	16.25
Controllo		20.	3.	3.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -142.1464
Pendenza (b) = 72.7428 es = *****
Media delle X = 2.0254
Media delle Y = 5.1855
CHI quadro = 0.1881

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.1500 es = 0.0797
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	97.9155	77.6398	101.4773
LC50	105.3977	102.2005	106.6510

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Boro N°5

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
104.00	2.0170	20.	8.	7.57
105.00	2.0212	20.	8.	9.20
106.00	2.0253	20.	12.	10.85
107.00	2.0294	20.	12.	12.45
108.00	2.0334	20.	14.	13.93
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -96.8358
Pendenza (b) = 50.3344 es = *****
Media delle X = 2.0251
Media delle Y = 5.0985
CHI quadro = 0.6397

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	94.8352	46.2207	99.9135
LC50	105.4840	101.2221	106.9892

Boro N°6

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
104.00	2.0170	20.	7.	8.53
105.00	2.0212	20.	12.	10.64
106.00	2.0253	20.	14.	12.75
107.00	2.0294	20.	14.	14.70
108.00	2.0334	20.	16.	16.35
Controllo		20.	2.	1.95

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -140.6413
Pendenza (b) = 72.0339 es = *****
Media delle X = 2.0251
Media delle Y = 5.2351
CHI quadro = 1.3580

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0977 es = 0.0664
Numero di cicli = 2

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	97.6222	80.3052	101.1146
LC50	105.1582	102.3310	106.2552

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Boro N°7

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
104.00	2.0170	20.	8.	8.80
105.00	2.0212	20.	12.	10.80
106.00	2.0253	20.	12.	12.91
107.00	2.0294	20.	16.	14.91
108.00	2.0334	20.	16.	16.60
Controllo		20.	4.	3.95
=====				
PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE Y=a+bX :				
(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)				
Intercetta (a) =	-157.6499			
Pendenza (b) =	80.3817	es =	*****	
Media delle X =	2.0256			
Media delle Y =	5.1716			
CHI quadro =	1.0436			
ALTRI PARAMETRI STATISTICI :				
Numero di punti =	5			
Gradi di libert... =	3			
Mortalit... naturale =	0.1973	es =	0.0888	
Numero di cicli =	2			
=====				
END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)		
		inferiore	superiore	
LC1	98.7483	80.8436	102.0151	
LC50	105.5529	102.5020	106.8118	

Boro N°8

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
104.00	2.0170	20.	9.	8.59
105.00	2.0212	20.	11.	10.86
106.00	2.0253	20.	12.	13.03
107.00	2.0294	20.	15.	14.97
108.00	2.0334	20.	17.	16.56
Controllo		20.	0.	0.00
=====				
PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE Y=a+bX :				
(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)				
Intercetta (a) =	-133.7880			
Pendenza (b) =	68.7198	es =	*****	
Media delle X =	2.0246			
Media delle Y =	5.3448			
CHI quadro =	0.3413			
ALTRI PARAMETRI STATISTICI :				
Numero di punti =	5			
Gradi di libert... =	3			
Mortalit... naturale =	0.0000	es =	0.0001	
Numero di cicli =	1			
=====				
END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)		
		inferiore	superiore	
LC1	96.7764	80.8803	100.3661	
LC50	104.6216	101.8017	105.5530	

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Boro N°9

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
104.00	2.0170	20.	9.	9.77
105.00	2.0212	20.	13.	11.99
106.00	2.0253	20.	14.	14.07
107.00	2.0294	20.	16.	15.86
108.00	2.0334	20.	17.	17.28
Controllo		20.	1.	0.99

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -138.1620
Pendenza (b) = 70.9289 es = *****
Media delle X = 2.0245
Media delle Y = 5.4365
CHI quadro = 0.3700

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0496 es = 0.0486
Numero di cicli = 2

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	96.7362	79.1585	100.4304
LC50	104.3246	100.6005	105.3685

Boro N°10

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
104.00	2.0170	20.	5.	5.89
105.00	2.0212	20.	10.	8.55
106.00	2.0253	20.	11.	11.37
107.00	2.0294	20.	14.	13.99
108.00	2.0334	20.	16.	16.17
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -169.6585
Pendenza (b) = 86.3229 es = *****
Media delle X = 2.0249
Media delle Y = 5.1398
CHI quadro = 0.6544

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	99.1668	91.9257	101.5296
LC50	105.5152	104.4573	106.2684

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



ANEXO F: OBTENCIÓN DE LA CL_{50-96} CON BORO POR ANOVA.

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



BORO N°1						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	2	2	3	1	8	2
105	2	3	2	4	11	2,75
106	4	2	3	3	12	3
107	2	3	4	5	14	3,5
108	2	4	4	5	15	3,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					60	15

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	37,5	5	7,5	8,18	2,77
Dentro de Grupos	16,5	18	0,92		
Total	54	23			

BORO N°2						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	2	0	4	2	8	2
105	1	2	5	3	11	2,75
106	5	2	2	3	12	3
107	2	3	5	4	14	3,5
108	5	2	5	4	16	4
Blanco	1	0	1	0	2	0,5
TOTAL					63	15,75

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	30,88	5	6,18	3,20	2,77
Dentro de Grupos	34,75	18	1,93		
Total	65,63	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



BORO N°3						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	2	0	3	1	6	1,5
105	2	4	0	3	9	2,75
106	5	3	5	0	13	3,25
107	3	3	5	2	13	3,25
108	5	3	5	3	16	4
Blanco	0	1	1	0	2	0,5
TOTAL					59	15,25

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	33,71	5	6,74	3,01	2,77
Dentro de Grupos	40,25	18	2,24		
Total	73,96	23			

BORO N°4						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	1	3	4	1	9	2,25
105	2	3	3	2	10	2,75
106	4	1	5	3	13	3,25
107	3	4	3	5	15	3,75
108	4	5	5	2	16	4
Blanco	0	0	0	3	3	0,75
TOTAL					66	16,75

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	28,5	5	5,7	3,21	2,77
Dentro de Grupos	32	18	1,78		
Total	60,5	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



BORO N°5						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	2	3	3	0	8	2
105	1	2	0	5	8	2,75
106	2	5	2	3	12	3
107	3	1	4	4	12	3
108	4	4	3	3	14	3,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					54	14,25

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	31,5	5	6,3	3,44	2,77
Dentro de Grupos	33	18	1,83		
Total	64,5	23			

BORO N°6						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	1	0	4	2	7	1,75
105	0	4	5	3	12	2,75
106	3	3	5	3	14	3,5
107	5	2	2	5	14	3,5
108	4	5	4	3	16	4
Blanco	0	1	2	0	3	0,75
TOTAL					66	16,25

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	31	5	6,2	2,83	2,77
Dentro de Grupos	39,5	18	2,19		
Total	70,5	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



BORO N°7						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	3	0	3	2	8	2
105	1	3	4	4	12	2,75
106	3	4	3	2	12	3
107	5	5	2	4	16	4
108	3	5	5	3	16	4
Blanco	2	0	2	0	4	1
TOTAL					68	16,75

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	27,33	5	5,47	3,51	2,77
Dentro de Grupos	28	18	1,56		
Total	55,33	23			

BORO N°8						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	0	5	0	4	9	2,25
105	3	0	4	5	12	2,75
106	4	1	3	4	12	3
107	5	3	2	5	15	3,75
108	5	5	2	5	17	4,25
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					65	16

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	44,71	5	8,94	2,97	2,77
Dentro de Grupos	54,25	18	3,01		
Total	98,96	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



BORO N°9						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	4	0	3	2	9	2,25
105	5	2	2	3	12	2,75
106	2	5	4	3	14	3,5
107	4	0	5	5	14	3,5
108	5	5	3	4	17	4,25
Blanco	0	1	0	0	1	0,25
TOTAL					67	16,5

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	39,71	5	7,94	3,55	2,77
Dentro de Grupos	40,25	18	2,24		
Total	79,96	23			

BORO N°10						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
104	2	2	1	0	5	1,25
105	1	0	5	4	10	2,75
106	4	2	0	5	11	2,75
107	1	5	3	5	14	3,5
108	2	4	5	5	16	4
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					56	14,25

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	43,83	5	8,77	3,06	2,77
Dentro de Grupos	51,5	18	2,86		
Total	95,33	23			



ANEXO G: CARTAS DE CONTROL PARA LAS PRUEBAS DE TOXICIDAD CON SELENIO (Se)

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Selenio N°1

Sustancia de prueba: Selenio

Inicio: 19/10/10

Finalizacion: 23/10/10

Concentracion	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentracion	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
4	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	20	5
4,3	0	0	0	0	1	0	0	0	2	2	0	3	7	20	35
4,5	0	0	0	0	1	1	0	0	3	2	4	2	11	20	55
4,7	0	0	0	0	2	3	1	0	3	4	3	3	13	20	65
5	0	0	0	0	2	3	4	3	3	3	5	4	15	20	75
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 4,69 mg/L

Cl_{50-96} :Pb: 4,54 mg/L

Limite inferior: 4,40 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Selenio N°2

Sustancia de prueba: Selenio

Inicio: 19/10/10

Finalizacion: 23/10/10

Concentracion	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentracion	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	2	6	20	30
4,5	0	0	0	0	0	1	0	1	3	4	2	3	12	20	60
4,7	0	0	0	0	2	0	1	0	4	3	3	5	15	20	75
5	0	0	0	0	2	1	1	1	3	5	4	5	17	20	85
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 4,59 mg/L

Cl_{50-96} Pb: 4,49 mg/L

Limite inferior: 4,39 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Selenio N°3

Sustancia de prueba: Selenio

Inicio: 19/10/10

Finalizacion: 23/10/10

Concentracion	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentracion	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
4,3	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	2	5	20	25
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	2	2	10	20	50
4,7	1	0	0	0	1	0	1	0	2	3	3	4	12	20	60
5	0	0	1	0	1	1	1	1	2	5	4	4	15	20	75
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 4,74 mg/L

Cl₅₀₋₉₆Pb: 4,59 mg/L

Limite inferior: 4,49 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Selenio N°4

Sustancia de prueba: Selenio

Inicio: 19/10/10

Finalizacion: 23/10/10

Concentracion	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentracion	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	4	20	20
4,5	0	0	0	0	1	0	1	0	3	3	3	1	10	20	50
4,7	0	0	0	0	0	2	0	0	4	4	4	0	12	20	60
5	0	0	0	0	1	0	1	0	5	2	5	3	15	20	75
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 4,75 mg/L

Cl_{50-96} : Pb: 4,58 mg/L

Limite inferior: 4,50 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Selenio N°5

Sustancia de prueba: Selenio

Inicio: 25/10/10

Finalizacion: 29/10/10

Concentracion	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentracion	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0	0	2	7	20	35
4,5	0	0	0	0	1	0	1	0	3	3	2	3	11	20	55
4,7	0	0	0	0	0	1	1	0	5	4	2	5	16	20	80
5	0	0	0	0	1	0	0	1	5	5	5	4	19	20	95
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 4,53 mg/L

Cl_{50-96} : Pb: 4,44 mg/L

Limite inferior: 4,34 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Selenio N°6

Sustancia de prueba: Selenio

Inicio: 25/10/10

Finalización: 29/10/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	1	1	8	20	40
4,5	0	0	0	0	1	0	0	2	4	3	2	3	12	20	60
4,7	0	0	0	0	0	2	0	0	3	5	3	5	16	20	80
5	0	0	0	0	1	2	2	0	4	5	5	5	19	20	95
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 4,52 mg/L

CL_{50-96} Pb: 4,43 mg/L

Limite inferior: 4,34 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Selenio N°7

Sustancia de prueba: Selenio

Inicio: 25/10/10

Finalizacion: 29/10/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	20	5
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	1	6	20	30
4,5	0	0	0	0	1	1	1	1	3	3	4	3	13	20	65
4,7	0	0	0	0	0	2	2	2	4	4	4	5	17	20	85
5	0	0	0	0	2	2	2	0	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 4,49 mg/L

Cl_{50-96} : Pb: 4,41 mg/L

Limite inferior: 4,32 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Selenio N°8

Sustancia de prueba: Selenio

Inicio: 04/11/10

Finalización: 06/11/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	20	5
4,3	0	0	0	0	0	1	0	1	1	3	1	2	7	20	35
4,5	0	0	0	0	1	0	0	1	3	2	3	3	11	20	55
4,7	0	0	0	0	0	1	1	0	4	3	5	3	15	20	75
5	0	0	0	0	1	1	0	1	5	5	3	5	18	20	90
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 4,57 mg/L

CL_{50-96} :Pb: 4,46 mg/L

Limite inferior: 4,36 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Selenio N°9

Sustancia de prueba: Selenio

Inicio: 04/11/10

Finalización: 06/11/10

Concentración ppm	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
4,3	0	0	0	0	0	1	0	1	2	3	1	2	8	20	40
4,5	0	0	0	0	2	0	1	1	4	3	3	2	12	20	60
4,7	0	0	0	0	2	1	2	0	4	3	4	3	14	20	70
5	0	0	0	0	2	2	0	2	4	4	3	5	16	20	80
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 4,61 mg/L

Cl_{50-96} Pb: 4,48 mg/L

Limite inferior: 4,36 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Selenio N°10

Sustancia de prueba: Selenio

Inicio: 04/11/10

Finalización: 06/11/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
ppm	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2	6	20	30
4,5	0	0	0	0	1	0	0	1	2	4	4	4	14	20	70
4,7	0	0	0	0	1	1	1	1	4	4	4	4	16	20	80
5	0	0	0	0	1	1	1	1	4	5	4	5	18	20	90
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 4,53 mg/L

CL_{50-96} Pb: 4,44 mg/L

Limite inferior: 4,35 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA



ANEXO H: OBTENCIÓN DE LA CL_{50-96} CON SELENIO POR EL MÉTODO PROBIT.

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Selenio N°1

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
4.00	0.6021	20.	1.	2.52
4.30	0.6335	20.	7.	6.26
4.50	0.6532	20.	11.	9.41
4.70	0.6721	20.	13.	12.53
5.00	0.6990	20.	15.	16.24
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -9.2600
Pendenza (b) = 21.7021 es = 4.8088
Media delle X = 0.6539
Media delle Y = 4.9317
CHI quadro = 2.2006

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	3.5472	2.9968	3.8172
LC50	4.5402	4.4071	4.6909

Selenio N°2

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
4.00	0.6021	20.	0.	2.60
4.30	0.6335	20.	6.	7.09
4.50	0.6532	20.	12.	10.80
4.70	0.6721	20.	15.	14.20
5.00	0.6990	20.	17.	17.69
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -14.1503
Pendenza (b) = 29.3452 es = 4.7212
Media delle X = 0.6515
Media delle Y = 4.9675
CHI quadro = 2.2077

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	3.7438	3.4325	3.9242
LC50	4.4935	4.3943	4.5975

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Selenio N°3

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
4.00	0.6021	20.	0.	2.43
4.30	0.6335	20.	5.	5.86
4.50	0.6532	20.	10.	8.79
4.70	0.6721	20.	12.	11.75
5.00	0.6990	20.	15.	15.49
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -11.3039
Pendenza (b) = 24.5858 es = 4.4558
Media delle X = 0.6549
Media delle Y = 4.7976
CHI quadro = 1.8088

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	3.7027	3.3043	3.9176
LC50	4.6041	4.4906	4.7463

Selenio N°4

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
4.00	0.6021	20.	0.	1.87
4.30	0.6335	20.	4.	5.24
4.50	0.6532	20.	10.	8.35
4.70	0.6721	20.	12.	11.60
5.00	0.6990	20.	15.	15.68
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -12.2488
Pendenza (b) = 25.9629 es = 4.6236
Media delle X = 0.6560
Media delle Y = 4.7830
CHI quadro = 2.0964

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	3.7563	3.3834	3.9595
LC50	4.6170	4.5076	4.7545

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Selenio N°5

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
4.00	0.6021	20.	1.	1.27
4.30	0.6335	20.	7.	6.32
4.50	0.6532	20.	11.	11.42
4.70	0.6721	20.	16.	15.81
5.00	0.6990	20.	19.	19.11
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -16.6170
Pendenza (b) = 33.3659 es = 5.7590
Media delle X = 0.6505
Media delle Y = 5.0864
CHI quadro = 0.2312

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	3.7858	3.4643	3.9628
LC50	4.4451	4.3456	4.5398

Selenio N°6

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
4.00	0.6021	20.	0.	2.29
4.30	0.6335	20.	8.	7.74
4.50	0.6532	20.	12.	12.28
4.70	0.6721	20.	16.	15.99
5.00	0.6990	20.	19.	18.96
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -17.4299
Pendenza (b) = 34.6801 es = 5.2591
Media delle X = 0.6484
Media delle Y = 5.0552
CHI quadro = 1.1281

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	3.7991	3.5401	3.9541
LC50	4.4337	4.3442	4.5218

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Selenio N°7

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
4.00	0.6021	20.	1.	0.89
4.30	0.6335	20.	6.	6.47
4.50	0.6532	20.	13.	12.53
4.70	0.6721	20.	17.	17.15
5.00	0.6990	20.	20.	19.67
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-21.6674	
Pendenza (b) =	41.3641	es = 6.7639
Media delle X =	0.6482	
Media delle Y =	5.1450	
CHI quadro =	0.3662	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	3.8767	3.6209	4.0219
LC50	4.4126	4.3266	4.4920

Selenio N°8

CONCENTRATION	LOG (CONC.)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
4.00	0.6021	20.	1.	1.64
4.30	0.6335	20.	7.	6.29
4.50	0.6532	20.	11.	10.71
4.70	0.6721	20.	15.	14.76
5.00	0.6990	20.	18.	18.43
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	-14.0235	
Pendenza (b) =	29.2565	es = 5.2175
Media delle X =	0.6519	
Media delle Y =	5.0482	
CHI quadro =	0.5427	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRATION	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	3.7215	3.3533	3.9207
LC50	4.4692	4.3611	4.5752

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Selenio N°9

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
4.00	0.6021	20.	0.	4.83
4.30	0.6335	20.	8.	8.61
4.50	0.6532	20.	12.	11.23
4.70	0.6721	20.	14.	13.62
5.00	0.6990	20.	16.	16.43
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -10.5237
Pendenza (b) = 23.8116 es = 4.2259
Media delle X = 0.6507
Media delle Y = 4.9696
CHI quadro = 2.7001

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	3.5830	3.1701	3.8095
LC50	4.4868	4.3698	4.6107

Selenio N°10

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
4.00	0.6021	20.	0.	2.41
4.30	0.6335	20.	6.	7.59
4.50	0.6532	20.	14.	11.89
4.70	0.6721	20.	16.	15.53
5.00	0.6990	20.	18.	18.67
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) = -16.5376
Pendenza (b) = 33.2342 es = 5.0752
Media delle X = 0.6492
Media delle Y = 5.0392
CHI quadro = 3.0062

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti = 5
Gradi di libert... = 3
Mortalit... naturale = 0.0000 es = 0.0001
Numero di cicli = 1

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	3.7849	3.5157	3.9455
LC50	4.4469	4.3553	4.5380



ANEXO I: OBTENCIÓN DE LA CL_{50-96} CON SELENIO POR ANOVA.

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SELENIO N°1						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
4	1	0	0	0	1	0,25
4,3	2	2	0	3	7	1,75
4,5	3	2	4	2	11	2,75
4,7	3	4	3	3	13	3,25
5	3	3	5	4	15	3,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					47	11,75

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	49,21	5	9,84	15,08	2,77
Dentro de Grupos	11,75	18	0,65		
Total	60,96	23			

SELENIO N°2						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
4	0	0	0	0	0	0
4,3	2	1	1	2	6	1,75
4,5	3	4	2	3	12	3
4,7	4	3	3	5	15	3,75
5	3	5	4	5	17	4,25
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					50	12,75

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	69,33	5	13,87	29,36	2,77
Dentro de Grupos	8,50	18	0,47		
Total	77,83	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SELENIO N°3						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
4	0	0	0	0	0	0
4,3	1	1	1	2	5	1,75
4,5	3	3	2	2	10	2,5
4,7	2	3	3	4	12	3
5	2	5	4	4	15	3,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					42	11

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	50,00	5	10		
Dentro de Grupos	8,50	18	0,47	21,18	2,77
Total	58,50	23			

SELENIO N°4						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
4	0	0	0	0	0	0
4,3	0	2	2	0	4	1,75
4,5	3	3	3	1	10	2,5
4,7	4	4	4	0	12	3
5	5	2	5	3	15	3,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					41	11

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	51,21	5	10,24		
Dentro de Grupos	25,75	18	1,43	7,16	2,77
Total	76,96	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SELENIO N°5						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
4	0	0	0	0	0	0
4,3	5	0	0	2	7	1,75
4,5	3	3	2	3	11	2,75
4,7	5	4	2	5	16	4
5	5	5	5	4	19	4,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					53	13,25

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	79,71	5	15,94		
Dentro de Grupos	24,25	18	1,35	11,83	2,77
Total	103,96	23			

SELENIO N°6						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
4	0	0	0	0	0	0
4,3	3	3	1	1	8	1,75
4,5	4	3	2	3	12	3
4,7	3	5	3	5	16	4
5	4	5	5	5	19	4,75
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					55	13,5

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	80,21	5	16,04		
Dentro de Grupos	10,75	18	0,60	26,86	2,77
Total	90,96	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SELENIO N°7						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
4	0	0	0	1	1	0,25
4,3	1	3	1	1	6	1,75
4,5	3	3	4	3	13	3,25
4,7	4	4	4	5	17	4,25
5	5	5	5	5	20	5
Blanco	0	0	0	0	0	0
				TOTAL	57	14,5

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	88,38	5	17,68		
Dentro de Grupos	5,25	18	0,29	60,6	2,77
Total	93,63	23			

SELENIO N°8						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
4	0	0	0	1	1	0,25
4,3	1	3	1	2	7	1,75
4,5	3	2	3	3	11	2,75
4,7	4	3	5	3	15	3,75
5	5	5	3	5	18	4,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
				TOTAL	52	13

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	67,33	5	13,47		
Dentro de Grupos	10	18	0,56	24,24	2,77
Total	77,33	23			

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



SELENIO N°9						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
4	0	0	0	0	0	0
4,3	2	3	1	2	8	1,75
4,5	4	3	3	2	12	3
4,7	4	3	4	3	14	3,5
5	4	4	3	5	16	4
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					50	12,25

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	60,83	5	12,17		
Dentro de Grupos	7	18	0,39	31,29	2,77
Total	67,83	23			

SELENIO N°10						
CONCENTRACIÓN	NUMERO DE REPLICAS				TOTAL	PROMEDIO
	R1	R2	R3	R4		
4	0	0	0	0	0	0
4,3	2	2	0	2	6	1,75
4,5	2	4	4	4	14	3,5
4,7	4	4	4	4	16	4
5	4	5	4	5	18	4,5
Blanco	0	0	0	0	0	0
TOTAL					54	13,75

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	81,5	5	16,3		
Dentro de Grupos	7	18	0,39	41,91	2,77
Total	88,5	23			



ANEXO J: CARTAS DE CONTROL PARA LA PRUEBAS DE TOXICIDAD CON VERTIMIENTO

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Vertimiento N°1

Sustancia de prueba: Vertimiento

Inicio: 08/11/10

Finalización: 12/11/10

	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
%	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
%	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D			
20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2	20	10
40	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	2	11	20	55
60	0	0	0	0	0	1	0	1	4	2	4	5	15	20	75
80	1	0	1	0	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	100
100	0	1	0	1	1	2	1	2	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 0,43 mg/L

Cl_{50-96} : Pb: 0,37 mg/L

Limite inferior: 0,31 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Vertimiento N°2

Sustancia de prueba: Vertimiento

Inicio: 08/11/10

Finalización: 12/11/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
%	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
%	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	0	4	12	20	60
60	0	0	0	0	1	0	0	2	3	3	3	5	14	20	70
80	0	0	0	0	0	1	2	0	5	5	5	5	20	20	100
100	0	0	0	0	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 0,50 mg/L

CL_{50-96} Pb: 0,42 mg/L

Limite inferior: 0,35 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (Cl_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Vertimiento N°3

Sustancia de prueba: Vertimiento

Inicio: 09/11/10

Finalización: 13/11/10

	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
%	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
%	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D			
2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	3	20	15
3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	12	20	60
4	0	0	0	0	0	2	0	2	3	5	3	4	15	20	75
5	0	0	0	0	1	1	1	1	5	4	5	5	19	20	95
10	0	0	0	0	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 0,42 mg/L

Cl_{50-96} : Pb: 0,35 mg/L

Limite inferior: 0,28 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Vertimiento N°4

Sustancia de prueba: Vertimiento

Inicio: 09/11/10

Finalización: 13/11/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
%	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	3	3
3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	4	4
4	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5	5	3
5	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5
10	0	0	0	0	0	3	3	0	5	5	5	5
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera				Nº de organismos por pecera						
%	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	Nº Muertos	Nº Total	% Mortalidad
2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	20	20	100
3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	20	20	100
4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	20	20	100
5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	20	20	100
10	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 0,46 mg/L

CL_{50-96} : Pb: 0,40 mg/L

Limite inferior: 0,34 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA

Determinación de la concentración letal media (CL₅₀₋₉₆) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA
REGISTRO DE DATOS DE LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA CON TRUCHAS ARCO IRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Vertimiento N°5

Sustancia de prueba: Vertimiento

Inicio: 09/11/10

Finalización: 13/11/10

Concentración	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
%	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera						
%	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	20	5
3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	4	3	12	20	60
4	0	0	0	0	1	0	0	0	5	4	2	5	16	20	80
5	0	0	0	0	2	0	2	1	5	4	5	5	19	20	95
10	0	0	0	0	1	2	0	2	5	5	5	5	20	20	100
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0

Limite superior: 0,44 mg/L

CL₅₀₋₉₆:Pb: 0,38 mg/L

Limite inferior: 0,32 mg/L

RESPONSABLE: Yulie Andrea Rivera; Diana Alexandra Molina

Elaborado por Pedro Miguel Escobar. TOXICIDAD ACUÁTICA



ANEXO K: OBTENCIÓN DE LA (CL_{50-96}) DEL VERTIMIENTO POR EL MÉTODO PROBIT

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Vertimientto N°1

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
0.20	-0.6990	20.	2.	2.21
0.40	-0.3979	20.	11.	10.24
0.60	-0.2218	20.	15.	15.54
0.80	-0.0969	20.	20.	18.00
1.00	0.0000	20.	20.	19.08
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	7.0584	
Pendenza (b) =	4.8966	es = 0.7089
Media delle X =	-0.3163	
Media delle Y =	5.5094	
CHI quadro =	1.5217	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	0.1272	0.0731	0.1754
LC50	0.3799	0.3148	0.4395

Vertimientto N°2

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
0.20	-0.6990	20.	0.	7.82
0.40	-0.3979	20.	12.	11.87
0.60	-0.2218	20.	14.	14.19
0.80	-0.0969	20.	20.	15.65
1.00	0.0000	20.	20.	16.62
Controllo		20.	2.	1.96

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	6.7222	
Pendenza (b) =	4.6626	es = 0.6225
Media delle X =	-0.2864	
Media delle Y =	5.3843	
CHI quadro =	2.1498	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI:

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0981	es = 0.0672
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	0.1354	0.0797	0.1872
LC50	0.4272	0.3502	0.5023

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Vertimiento Nº3

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
0.20	-0.6990	20.	3.	3.01
0.40	-0.3979	20.	12.	11.38
0.60	-0.2218	20.	15.	16.21
0.80	-0.0969	20.	19.	18.32
1.00	0.0000	20.	20.	19.23
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	6.9159	
Pendenza (b) =	4.3044	es = 0.6938
Media delle X =	-0.3372	
Media delle Y =	5.4644	
CHI quadro =	1.3777	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI:

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		<u>inferiore</u>	superiore
LC1	0.1034	0.0505	0.1521
LC50	0.3588	0.2875	0.4238

Vertimiento Nº4

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
0.20	-0.6990	20.	0.	4.72
0.40	-0.3979	20.	11.	10.74
0.60	-0.2218	20.	14.	14.29
0.80	-0.0969	20.	20.	16.34
1.00	0.0000	20.	20.	17.56
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	6.8339	
Pendenza (b) =	4.6877	es = 0.5831
Media delle X =	-0.3068	
Media delle Y =	5.3955	
CHI quadro =	1.6230	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI:

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		<u>inferiore</u>	superiore
LC1	0.1296	0.0820	0.1729
LC50	0.4063	0.3464	0.4649

Determinación de la concentración letal media (CI_{50-96}) de Selenio y Boro sobre alevinos de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante bioensayos.



Vertimiento N°5

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N.MORTI	
			osservati	attesi
0.20	-0.6990	20.	1.	1.40
0.40	-0.3979	20.	12.	10.64
0.60	-0.2218	20.	16.	16.78
0.80	-0.0969	20.	19.	18.98
1.00	0.0000	20.	20.	19.68
Controllo		20.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y=a+bX$:

(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	7.2318	
Pendenza (b) =	5.3793	es = 0.8499
Media delle X =	-0.3365	
Media delle Y =	5.4217	
CHI quadro =	0.9726	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI :

Numero di punti =	5	
Gradi di libert... =	3	
Mortalit... naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		inferiore	superiore
LC1	0.1421	0.0816	0.1930
LC50	0.3847	0.3203	0.4447



ANEXO L: OBTENCIÓN DE LA (CL_{50-96}) DEL VERTIMIENTO POR ANOVA



ANEXO M: PROTOCOLO LB01. ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS




ANEXO N: PROTOCOLO LB02. PRUEBAS DE TOXICIDAD SOBRE TRUCHA ARCO IRIS



ANEXO O: PROTOCOLO LB03. ANÁLISIS DE RESULTADOS, MÉTODO PROBIT



ANEXO P: ANÁLISIS DE VARIANZA, MÉTODO ANOVA

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB01
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS (Oncorhynchus mykiss)	Página 1 de 6
		Versión 0

CONTENIDO

- Objetivo
- Materiales
- Principio del método
- Definición
- Procedimiento
- Bibliografía
- Anexo A1: Parámetros de control del agua

1. OBJETIVO

Realizar la aclimatación de los organismos de prueba *Trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss)*, a nivel de laboratorio, para posteriores pruebas de ensayo.

2. MATERIALES

- ♣ Acuarios
- ♣ Mangueras
- ♣ Aireadores
- ♣ Filtros
- ♣ Difusores
- ♣ Oxímetro (Hanna)
- ♣ pH metro (Mettler Toledo)
- ♣ Termómetro
- ♣ Alimento para peces
- ♣ Agua declorinada

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

La aclimatación de los alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), se realiza según la metodología CETESB, con el fin de adaptar los organismos a un nuevo ambiente para la posterior realización de las pruebas de toxicidad a nivel de laboratorio.


FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB01
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Página 2 de 6 Versión 0

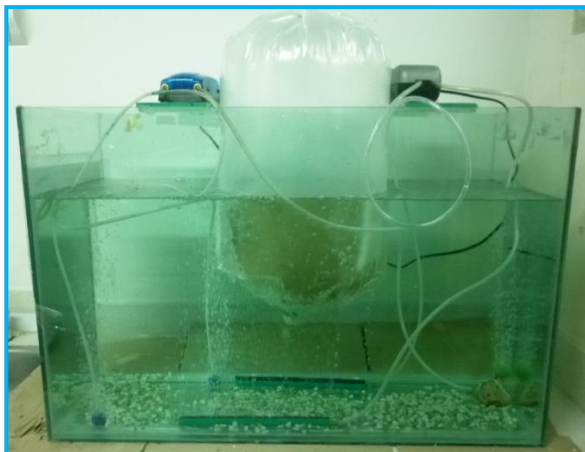
4. DEFINICIONES

- ♣ **Aireador:** Equipo empleado para oxigenar el agua de los acuarios.
- ♣ **Aclimatación:** Es el proceso por el cual un organismo se adapta fisiológicamente a los cambios en su medio ambiente, que en general tienen relación directa con el clima. Se suele usar este término para referirse a procesos que ocurren durante un período de tiempo corto, como la vida de un organismo individual o grupo.
- ♣ **Acuario:** Recipiente de vidrio acondicionado para mantener a los peces vivos.
- ♣ **Agua libre de cloro:** Es aquella que, mediante aireación constante, le es removido el cloro residual presente en la misma y a la cual se le garantiza un rango de pH y condiciones adecuadas para el bioensayo.
- ♣ **Alevino:** Cría de ciertos peces de agua dulce que se emplea para re poblamiento de ríos y lagos
- ♣ **Oncorhynchus mykiss:** Salmónido que se caracteriza por presentar cuerpo alargado, fusiforme y cabeza relativamente pequeña que termina en una boca grande, puntiaguda, hendida hacia el nivel de los ojos y con una fila de dientes fuertes en cada una de las mandíbulas, que les permite aprisionar las presas capturadas. Son característicos de agua dulce.
- ♣ **Oxímetro:** Monitores empleados para medir la cantidad de oxígeno presente en el agua.

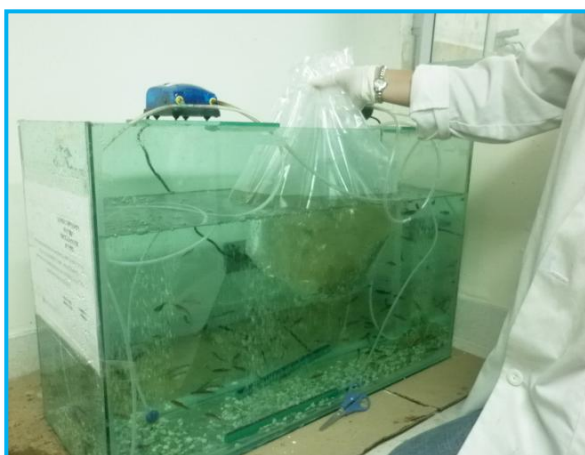
5. PROCEDIMIENTO

El proceso de aclimatación se realiza para que los alevinos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) se adecuen fisiológicamente a los cambios en su medio ambiente, los cuales se relacionan directamente con el clima.

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD DE LA SALLE</p> <p style="text-align: center;">Bogotá - Colombia</p>	 LB01
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	<p style="text-align: center;">ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS <i>(Oncorhynchus mykiss)</i></p>	Página 3 de 6 Versión 0
<p>5.1. ACLIMATACIÓN</p> <p>5.1.1. Los alevinos de trucha arco iris se aclimatan en acuarios de 100 L y 50 L, dependiendo de la cantidad de organismos.</p> <p>5.1.2. El agua de los acuarios debe estar preparada (aireada) 8 días antes de la llegada de los alevinos, con el fin de remover el cloro residual presente en el agua y evitar así la muerte de los mismos.</p> <p>5.1.3. Según lo establecido en los protocolos de la CETESB, para evitar la muerte de los alevinos se debe tener control permanente de los siguientes parámetros:</p> <ul style="list-style-type: none"> ♣ Oxígeno: 6 - 8 mg/L ♣ Temperatura: 15 – 18 °C ♣ pH: 6,5 – 7,5 unidades <p>5.1.4 En el momento de la llegada de los alevinos de Trucha Arco Iris, se debe introducir la bolsa en el acuario, con el fin de nivelar las temperaturas, esto se debe hacer por un lapso de tiempo de 2 horas.</p> <p>5.1.5 Posteriormente los organismos son introducidos a los acuarios en una malla divididos en pequeños grupos y se distribuyen uniformemente en el acuario, para evitar el estrés y la muerte de los alevinos.</p> <p>5.1.6 Los alevinos son aclimatados por un lapso de tiempo de 15 días aproximadamente según lo establecido por la CETESB, para un mejor desempeño de los mismos en las pruebas de toxicidad.</p> <p>5.1.7 Durante el proceso de aclimatación, los acuarios deben ser limpiados por medio de una aspiradora, para remover las eses de los peces y el exceso de comida presente en el agua, esto para evitar que el amonio generado produzca la muerte de los alevinos de trucha arco iris, es importante anotar que en el caso de que los peces presenten hongos en su cuerpo, se debe aplicar unas gotas de azul de metileno, para prolongar la vida de los organismos.</p>		



Nivelación de
temperaturas de los
alevinos



Distribución de los
alevinos



Aclimatación de los
alevinos

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB01
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Página 5 de 6 Versión 0

6. BIBLIOGRAFÍA


- ♣ EPA., 1994
- ♣ BERNAL Y ROJAS, Determinación de la concentración letal media del mercurio por medio de bioensayos de toxicidad acuática. Bogotá, D.C., 2007.
- ♣ ESCOBAR MALAVER, Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *Daphnia Pulex* para la evaluación de muestras ambientales. Santafé de Bogotá, D.C., 1997.
- ♣ COMPAÑÍA DE TECNOLOGÍA Y SANEAMIENTO AMBIENTAL DE SAO PAULO, BRASIL - CETESB. Pruebas de Toxicidad aguda. Protocolos L5.017/ 92.
- ♣ PROYECTO CAR – BID – CONTRATO 298–94. Estudio de evaluación de toxicidad relativa de sustancias tóxicas en vertimientos y cuerpos receptores. Bogotá, D.C.1994.


7. ANEXO


Registro de OD, Temperatura y pH en el area de aclimatación de los alevinos

UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá, Colombia			 LB01
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA REGISTRO DE LOS PARAMETROS DE CONTROL LABORATORIO DE BIOENSAYOS			
FECHA	OXIGENO DISUELTO	TEMPERATURA	pH

Elaboro: Pedro Miguel Escobar Malaver
Yulie Andrea Rivera Hoyos
Diana Alexandra Molina Trujillo

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB03
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS MEDIANTE EL MÉTODO PROBIT	Página 1 de 12
		Versión 0
CONTENIDO 1. Objetivo 2. Definiciones 3. Principio del modelo matemático 4. Procedimiento 5. Bibliografía 6. Anexo 1: Relación entre el Probit empírico y el porcentaje de mortalidad Anexo 2: Representación grafica del cálculo de la CL50 Anexo 3: Determinación del Chi-cuadrado (X2). Anexo 4: Factor (p) para el Probit calculado (Y). 1. OBJETIVO Evaluar los resultados de los ensayos por medio de un modelo estadístico 2. DEFINICIONES ♣ Concentración: Magnitud física que expresa la cantidad de un elemento o un compuesto por unidad de volumen. ♣ Dosis: Contenido de principio activo, expresado en cantidad por unidad de toma, por unidad de volumen o de peso en función de la presentación, que se administrara de una vez. ♣ Efecto: Consecuencia positiva o negativa, de la ocurrencia de un evento. ♣ Modelo: Conceptualización de un evento, un proyecto, una hipótesis, el estado de una cuestión, que se representa como un esquema con símbolos descriptivos de características y relaciones más importantes con un fin: ser sometido a modelización como un diseño flexible, que emerge y se desarrolla durante el inicio de la investigación como una evaluación de su relevancia.		

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB03
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS MEDIANTE EL MÉTODO PROBIT	Página 2 de 12 Versión 0
<p>♣ Toxicidad aguda: La toxicidad aguda tiene por objeto determinar los efectos de una dosis única y muy elevada de una sustancia. Usualmente, el punto final del estudio es la muerte del animal y la toxicidad aguda se expresa por la dosis letal 50, que viene a representar más o menos la dosis de la sustancia que produce la muerte en el 50% de los animales.</p> <p>♣ Probit: Modelo estadístico que analiza las pruebas de toxicidad. El método consiste en la aplicación de correlaciones estadísticas para estimar las consecuencias desfavorables sobre una población a los fenómenos físicos peligrosos; nos da una relación entre la función de probabilidad y una determinada carga de exposición.</p> <p>3. PRINCIPIO DEL MODELO MATEMÁTICO</p> <p>En un experimento típico de pruebas de toxicidad se tiene la siguiente situación:</p> <ol style="list-style-type: none"> Concentración de la sustancia o dosis (d). Número de individuos (n). Numero de organismos muertos o afectados (r). Porcentaje de efecto (p). $p = \frac{r}{n} * 100$ <p>La representación grafica de p vs. d, o relación dosis-respuesta, genera una curva parabólica que muchas veces presenta dificultades en la construcción de un modelo lineal.</p> <p>Una forma de abordar este problema es transformando d a una escala logarítmica ($X = \log_{10}(d)$), lo cual mostrara una relación dosis-respuesta de forma S o sigmoidea normal, como se muestra en la figura 1; de esta manera la distribución de p vs. X será de tipo normal.</p>		

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB03
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS MEDIANTE EL MÉTODO PROBIT	Página 3 de 12 Versión 0

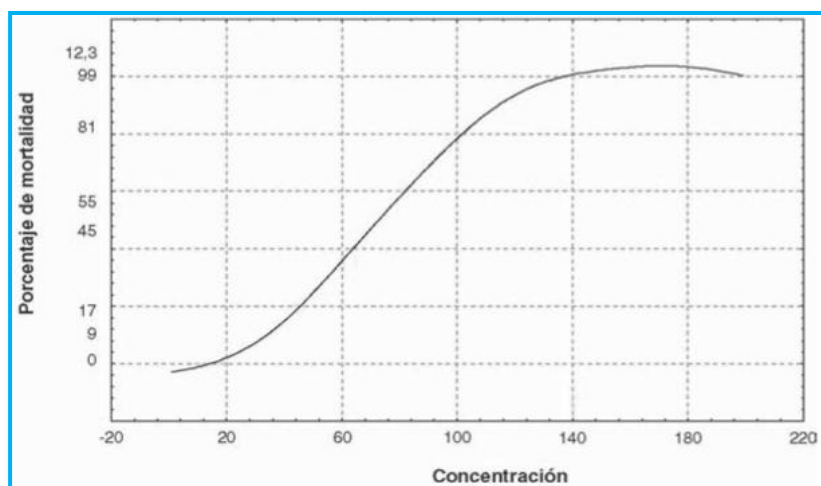


Figura 1. Relación dosis-respuesta

Posteriormente, mediante las tablas de Probit se transforma p (porcentaje de efecto) a unidades Probit (buscando en una tabla de distribución normal el valor de z correspondiente a una probabilidad acumulada igual a p y sumándole a continuación cinco unidades), se obtiene una distribución de puntos en un sistema bi-variado de tipo lineal, los cuales se procesan según un análisis de regresión típico. Vale la pena enfatizar que el Probit es una transformación sobre la tasa de efecto (p), y la ecuación generada es de la forma:

$$y = a + bx$$

Donde:


y (expresado en unidades Probit) = $z + 5$

z = Variable normal estándar = z_0 tal que la Prob ($z \leq z_0$) = p

a y b son los estimadores de los parámetros de la recta de regresión

Así, cuando $p = 50\%$ entonces $y = 5$, por lo tanto:

$X_{50} = \log_{10} CL_{50}$, entonces $CL_{50} = 10^5$

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB03
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS MEDIANTE EL MÉTODO PROBIT	Página 4 de 12 Versión 0

Para facilitar los cálculos, simplemente se puede usar un software como el suministrado por la US Environmental Protection Agency (US EPA): Probit Analysis Program. El procedimiento Probit permite encontrar estimadores m-verosimiles de parámetros de regresión y de tasas naturales (por ejemplo, tasas de mortalidad) de respuesta para ensayos biológicos, analizando porcentajes de efecto vs. Dosis dentro del marco de la regresión


4. PROCEDIMIENTO

Para el cálculo de la CL_{50} por este método es necesario contar, por lo menos, con dos porcentajes intermedios del efecto esperado (valores entre 0 y 100%). Con los resultados obtenidos en los ensayos de toxicidad aguda con *Oncorhynchus Mykiss* se debe construir una tabla que contenga los siguientes datos:

- ♣ Concentración de la sustancia ensayada en %
- ♣ Logaritmo en base 10 de las concentraciones (x)
- ♣ Numero de organismos en cada concentración
- ♣ Numero de organismos muertos en cada concentración (r).
- ♣ Porcentaje de mortalidad en cada concentración (P).
- ♣ Probit empírico (PE).
- ♣ Probit esperado o calculado (Y).

Los cinco primeros resultados corresponden a datos experimentales; el Probit empírico se obtiene de la tabla 4 del Anexo 1 con el porcentaje de mortalidad observada en cada una de las concentraciones y se tabula en la tabla 1.

Tabla 1: Cálculo de la CL_{50} por el método Probit						
Concentración del agente tóxico (%)	Log10 de la concentración (X)	Núm. de organismos (N)	Núm. de muertos (r)	Porcentaje de mortalidad (P)	Probit empírico (PE)	Probit calculado (Y)

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB03
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS MEDIANTE EL MÉTODO PROBIT	Página 5 de 12 Versión 0

A partir de estos datos se elabora una grafica en papel cuadriculado, colocando en el eje X el logaritmo de las concentraciones y en el eje Y el Probit empírico (Figura 1 Anexo 2), y se ajusta la recta a través de estos puntos. En el grafico se traza una línea a partir del Probit 5,0 hasta cortar la línea trazada; el valor correspondiente en el eje X se denomina m y el antilogaritmo de este valor corresponderá a la CE₅₀ o CL₅₀.

Para el cálculo del Probit esperado o calculado, debe hallarse el valor de S correspondiente a la tasa de incremento del log de la concentración (x) por unidad de incremento del Probit.

En la recta trazada se calcula la pendiente, tomando el porcentaje donde se hallo el mayor y el menor efecto, así como los probits correspondientes a estos valores, remplazando en la siguiente fórmula:

$$S = (X - x)/(PE - pe)$$

Donde:


X: Mayor concentración

x: Menor concentración

PE: Probit empírico correspondiente a la mayor concentración

Pe: Probit empírico correspondiente a la menor concentración

A partir de estos datos se elabora una grafica en papel cuadriculado, colocando en el eje X el logaritmo de las concentraciones y en el eje Y el Probit empírico (Figura 1 Anexo 2), y se ajusta la recta a través de estos puntos. En el grafico se traza una línea a partir del Probit 5,0 hasta cortar la línea trazada; el valor correspondiente en el eje X se denomina m y el antilogaritmo de este valor corresponderá a la CE₅₀ o CL₅₀.

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB03
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS MEDIANTE EL MÉTODO PROBIT	Página 6 de 12 Versión 0

Así, los valores del Probit esperado o calculado (Y) para cada concentración podrán ser calculados utilizando la siguiente expresión:

$$Y = 5 + \frac{(x - m)}{S}$$

Una vez calculados se colocan en la columna correspondiente de la tabla 2.

La prueba de hipótesis utilizada para establecer la asociación entre la concentración de la sustancia tóxica y la respuesta en unidades probit es la prueba de CHI-cuadrado (X2). Los datos para el cálculo de este valor se colocan en una tabla 5 (Anexo 3) de la siguiente forma:

- ♣ Concentración de la sustancia estudiada en %
- ♣ Logaritmo decimal de la concentracion (x).
- ♣ Probit calculado o esperado (Y).
- ♣ Numero de organismos (N)
- ♣ Mortalidad observada (r)
- ♣ Porcentaje de efecto esperado (P).

La mortalidad esperada (NP') se calcula multiplicando (N) por (P').

El cálculo de la desviación de la mortalidad se obtiene hallando la diferencia entre la mortalidad observada y la esperada. La contribución al Chi cuadrado de cada uno de los valores se calcula:

$$(r - NP)^2 / NP(1 - P)$$

Y para el cálculo de los grados de libertad (n):

$$n = K - 2$$

donde K es el numero de concentraciones utilizadas

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB03
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS MEDIANTE EL MÉTODO PROBIT	Página 7 de 12 Versión 0

Con los datos obtenidos se diligencia la Tabla 2 para el cálculo del intervalo de confianza:

Tabla 2. Valores de X2 para una P=0.05.	
Grados de libertad(n)	X2

Para el cálculo de los límites es necesario establecer el error estándar. El error estándar del log de la concentración letal para el 50% de los organismos se obtiene a través de la siguiente expresión:

$$EE \log_{10} CL_{50} = \left\{ S^2 \left(\frac{1}{SNp} + \frac{(m - x)^2}{SNp(x - x^2)} \right) \right\}^{0.5}$$

Inicialmente, se construye una tabla en la cual se incorporen los siguientes datos:

- ♣ Logaritmo decimal de las concentraciones (x).
- ♣ Numero de organismos por concentración (N).
- ♣ Probit esperado o calculado (Y).
- ♣ Factor p, el cual se obtiene de la tabla 5 del Anexo 3 con el valor Y.
- ♣ Productos Np, Npx y Npx2, obtenidos de los datos de la misma tabla
- ♣ Sumatoria de los productos correspondientes a los valores SNp, SNpx y S Npx2
- ♣ Factor p debe ser obtenido en la tabla entrando el valor de Probit calculado
- ♣ Producto Np resultante de la multiplicación de los valores de numero de organismos por el factor p y su respectiva sumatoria.
- ♣ Producto Npx resultante de la multiplicación del producto anterior por el logaritmo de las concentraciones con su respectiva sumatoria.
- ♣ Producto Npx2 resultante de la multiplicación del producto anterior por el logaritmo de la concentración con su respectiva sumatoria.

Con todos los datos anteriores, se diligencia la Tabla 3:

Tabla 3. Cálculo del error estándar del log ₁₀ CL ₅₀ .						
Log 10 de la concentración (x)	Núm. De organismos (N)	Probit calculado (Y)	Factor (p)	Producto (Np)	Producto (Npx)	Producto (Npx ²)

Al tener la CL₅₀ y no olvidando que el intervalo de confianza es 95% tendremos la concentración letal con sus límites inferior y superior respectivamente.

Para el desarrollo de esta investigación se adquirió el Software de Probit, el cual determinar la CL₅₀₋₉₆ y los límites de confianza mas rápido, y su procedimiento es el siguiente:

- ♣ Se instala el programa en un computador que cuente con un software de Windows 98 en adelante, creándose una carpeta de Probit en el escritorio.
- ♣ Dentro de esta carpeta quedaran registrados varios archivos; se dirige al archivo con nombre PROBFIS2 y se da doble clic donde se abre una ventana de la siguiente manera:

```

ANALISI DE PROBIT USATA PER CALCOLARE LA LC
NUMERO MASSIMO DI PUNTI = 20
A. Puddu, Istituto di Ricerca Sulle Acque - CNR
Via Reno 1-00198 Roma, Tel. 06/8841451
Marzo 1989

Inserimento dei dati da TASTIERA (1) o da FILE (2) ?
Battere 1, 2 oppure CTRL+C per abbandonare >
===== >
  
```

Da dos opciones para manejar el programa, la (1) es para introducir los datos con el teclado, la (2) para introducirlos en fila. Es este paso se escribe (1), y sale:

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB03
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS MEDIANTE EL MÉTODO PROBIT	Página 9 de 12 Versión 0

```

ANALISI DE PROBIT USATA PER CALCULARE LA LC
NUMERO MASSIMO DI PUNTI = 20
A. Puddu, Istituto di Ricerca Sulle Acque - CNR
Via Reno 1-00198 Roma, Tel. 06/8841451
Marzo 1989

Inserimento dei dati da TASTIERA (1) o da FILE (2) ?
Battere 1, 2 oppure CTRL+C per abbandonare >
===== > 1
Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2), oppure FILE (3) ?
===== > 3

```

Ahora se le da un nombre al archivo que se crea con los resultados que determina el programa, así

:


```

ANALISI DE PROBIT USATA PER CALCULARE LA LC
NUMERO MASSIMO DI PUNTI = 20
A. Puddu, Istituto di Ricerca Sulle Acque - CNR
Via Reno 1-00198 Roma, Tel. 06/8841451
Marzo 1989

Inserimento dei dati da TASTIERA (1) o da FILE (2) ?
Battere 1, 2 oppure CTRL+C per abbandonare >
===== > 1
Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2), oppure FILE (3) ?
===== > 3
Inserisci il nome (NAME2) del file per i risultati
===== > B

```

Ahora el programa pide que se inserten el numero de concentraciones, sin el control, numero de muertes en el control, numero de organismos en el control, así:

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB03
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS MEDIANTE EL MÉTODO PROBIT	Página 10 de 12
		Versión 0

```

Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2), oppure FILE (3) ?
===== > 3
Inserisci il nome (NAME2) del file per i risultati
===== > B
NUMERO DI CONCENTRAZIONI (escluso el controllo)=5
NUMERO MORTI NEL CONTROLLO=0
NUMERO ORGANISMI NEL CONTROLLO=20

```

Ahora se procede a ingresar los datos de las concentraciones comenzando por la concentración menor, el número de muertes en cada una y el numero de tratamientos, así

:

```

Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2), oppure FILE (3) ?
===== > 3
Inserisci il nome (NAME2) del file per i risultati
===== > B
NUMERO DI CONCENTRAZIONI (escluso el controllo)=5
NUMERO MORTI NEL CONTROLLO=0
NUMERO ORGANISMI NEL CONTROLLO=20

== > INIZIA A INSERIRE I DATI DALLA CONC. IFERIORE
CONCENTRAZIONE= 0.1
NUMERO MORTI= 0
NUMERO TRATTATI=20

```

Así sucesivamente hasta completar los datos de las 5 concentraciones. Al terminar este paso se da enter y se cierra esta ventana; en la carpeta de probit aparece un archivo con el nombre que se le designo a esa batería donde dará los resultados de la CL_{50} con los límites de confianza.

5. BIBLIOGRAFÍA

- ♣ <http://www.metodologia.probit.htm>
- ♣ http://www.unizar.es/guiar/1/Accident/An_conse/Probit.htm

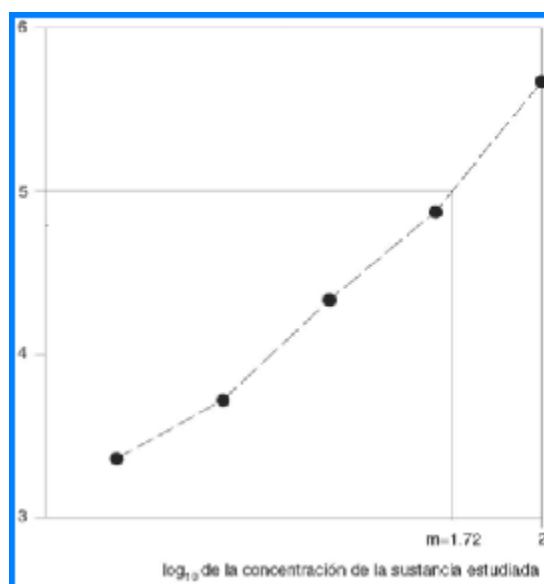
6. ANEXOS


Anexo1: Relación entre el Probit empírico y el porcentaje de mortalidad

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
%	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99a	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	9,09

A Valores entre 99, 0 y 99, 9.

Anexo 2: Representación grafica del cálculo de la CL50



FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB03
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE RESULTADOS MEDIANTE EL MÉTODO PROBIT	Página 12 de 12 Versión 0

Anexo 3: Determinación del Chi-cuadrado (χ^2).


Concentración de la sustancia tóxica (%)	Log ₁₀ De la concentración (X)	Probit Calculado (Y)	% De efecto esperado (P ⁿ)	Num de organismos (N)	Num de muertos (r)	Mortalidad esperada (NP ⁿ)	Desviación (r-NP ⁿ)	Contribución al χ^2 $(r - NP^n)^2 / NP^n(1 - NP^n)$


Concentración de la sustancia tóxica (%)	Log ₁₀ de la Concentración (X)	Probit calculado (Y)	Porcentaje de efecto esperado (P ⁿ)	Núm.de organismos (N)	Núm.de muertos (r)	Mortalidad esperada (NP ⁿ)	Desviación (r-NP ⁿ)	Contribución al χ^2 $(r - NP^n)^2 / NP^n(1 - P^n)$
100	2.0	5.53	0.705	20	15	14.1	0.9	0.19
50	1.7	4.96	0.485	20	9	9.7	-0.7	0.09
25	1.4	4.40	0.275	20	5	5.5	-0.5	0.06
12.5	1.1	3.84	0.125	20	2	2.5	-0.5	0.11
6.25	0.8	3.27	0.045	20	1	0.9	0.1	0.01
								0.48

Anexo 4: Factor (p) para el Probit calculado (Y).

Y	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
1	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002	0,003	0,005	0,006	0,008	0,011
2	0,015	0,019	0,025	0,031	0,040	0,069	0,062	0,076	0,092	0,110
3	0,131	0,154	0,180	0,208	0,238	0,264	0,302	0,336	0,370	0,406
4	0,439	0,471	0,503	0,532	0,558	0,583	0,601	0,616	0,627	0,634
5	0,637	0,634	0,627	0,616	0,601	0,589	0,558	0,532	0,503	0,471
6	0,439	0,405	0,370	0,336	0,302	0,269	0,238	0,208	0,180	0,154
7	0,131	0,110	0,092	0,076	0,062	0,059	0,050	0,031	0,025	0,019
8	0,015	0,011	0,008	0,006	0,005	0,003	0,002	0,002	0,001	0,001

--

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB04
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA “ANOVA”	Página 1 de 5
		Versión 0
CONTENIDO 1. Objetivo 2. Definiciones 3. Principio del modelo 4. Procedimiento 5. Bibliografía 1. OBJETIVO Comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos. 2. DEFINICIONES ♣ Variable: Conceptos que forman enunciados de un tipo particular denominado hipótesis. Las variables se refieren a propiedades de la realidad que varían, es decir, su idea contraria son las propiedades constantes de cierto fenómeno. ♣ Variable Dependiente: Características de la realidad que se ven determinadas o que dependen del valor que asuman otros fenómenos o variables independientes. ♣ Variables independientes: Los cambios en los valores de este tipo de variables determinan cambios en los valores de otra (variable dependiente). ♣ Grados de libertad: Número efectivo de observaciones que contribuyen a la suma de cuadrados en un ANOVA, es decir, el número total de observaciones menos el número de datos que sean combinación lineal de otros. ♣ Hipótesis: Propositiones provisionales y exploratorias sobre la veracidad o falsedad de un concepto, una teoría o un modelo con un alcance de trabajo de investigación por simulación y con métodos de campo o de laboratorio.		

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB04
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE VARIANZA “ANOVA”	Página 2 de 5 Versión 0

3. PRINCIPIO DEL MODELO

El análisis de varianza parte de algunos supuestos que han de cumplirse:

- ♣ La variable dependiente debe medirse al menos a nivel de intervalo.
- ♣ Independencia de las observaciones.
- ♣ La distribución de la variable dependiente debe ser normal.
- ♣ Homogeneidad de las varianzas

Los modelos de *efectos aleatorios* asumen que en un factor se ha considerado tan sólo una muestra de los posibles valores que éste puede tomar; estos modelos se usan para describir situaciones en que ocurren diferencias incomparables en el material o grupo experimental. El ejemplo más simple es el de estimar la media desconocida de una población compuesta de individuos diferentes y en el que esas diferencias se mezclan con los errores del instrumento de medición.

La técnica fundamental consiste en la separación de la suma de cuadrados (SS, 'sum of squares') en componentes relativos a los factores contemplados en el modelo. Como ejemplo, mostramos el modelo para un ANOVA simplificado con un tipo de factores en diferentes niveles. (Si los niveles son cuantitativos y los efectos son lineales, puede resultar apropiado un análisis de regresión lineal).

$$SS_{Total} = SS_{Error} + SS_{Factores}$$

El número de grados de libertad (gl) puede separarse de forma similar y se corresponde con la forma en que la distribución chi-cuadrado describe la suma de cuadrados asociada.

$$gl_{Total} = gl_{Error} + gl_{Factores}$$

4. PROCEDIMIENTO

Al realizar una prueba de toxicidad, se pasan los datos correspondientes a la Tabla 1

Tabla 1. Formato de Datos de Prueba de Toxicidad

Tratamientos	Observaciones				Yi	Yi Promedio
	1	2	3	4		

Se plantea la hipótesis nula y la hipótesis X

Ho: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_n$

H1: $\mu_1 \neq \mu_2$, para algún par


El tratamiento de análisis de varianza se hace mediante la Tabla 2:

Tabla 2. Análisis de Varianza

FV	SS	GL	Ms	Fc	Ft
Tratamiento	SS_{TTO}	$a - 1$	$\frac{SS_{TTO}}{a - 1}$	$\frac{SS_{TTO} / a - 1}{SS_E / N - a}$	$F\alpha (V_1 V_2)$
Error	SS_E	$N - a$	$\frac{SS_E}{N - a}$		
Total	SS_T	$N - 1$			

Donde:

- ♣ N: Número total de observaciones; $N: a * n$
- ♣ n: número de observaciones en cada grupo
- ♣ a: número de tratamientos

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB04
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS VARIANZA “ANOVA”	Página 4 de 5
		Versión 0

♣ FV : Fuente de varianza

♣ SS: Suma de cuadrados

♣ GL: Grados de libertad

♣ Ms: Cuadrados medios

♣ Fc: F calculado

♣ Ft: F tabulado

♣ V1: a – 1

♣ V2: N – a

Para obtener el SSTTO, se debe reemplazar la siguiente formula:

$$SS_{TTO} = \sum_{i=1}^{a=5} \frac{Y_i^2}{n} - \frac{\bar{Y}^2}{N}$$

Para obtener el SST, se debe reemplazar la siguiente formula:

$$SS_T = \sum_{i=1}^{a=5} \times \sum_{j=1}^{n=5} = Y_{ij}^2 \times \frac{\bar{Y}^2}{N}$$


Para obtener el SSE:

$$SS_E = SS_T + SS_{TTO}$$


Al obtener el Fc lo comparamos el Ft, para refutar o aceptar alguna hipótesis, esto se hace así:


Fc > Ft Se rechaza la Ho

Fc < Ft Se acepta la Ho

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB04
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ANÁLISIS DE VARIANZA “ANOVA”	Página 5 de 5
		Versión 0
<p>5. BIBLIOGRAFÍA</p> <ul style="list-style-type: none">♣ http://www.estadistico.com/arts.html?20011022♣ http://www.udc.es/dep/mate/estadistica2/sec3_7.html♣ http://es.wikipedia.org/wiki/An%C3%A1lisis_de_varianza		

--

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD DE LA SALLE</p> <p style="text-align: center;">Bogotá - Colombia</p>	 LB02
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	<p style="text-align: center;">PRUEBAS DE TOXICIDAD SOBRE TRUCHA ARCO IRIS <i>(Oncorhynchus mykiss)</i></p>	Página 1 de 8 Versión 0
<p>CONTENIDO</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Objetivos 2. Definiciones 3. Materiales 4. Principio del método 5. Procedimiento 6. Bibliografía <p>1. OBJETIVO</p> <p>Determinar la concentración letal media (CL₅₀₋₉₆) de una sustancia pura o de un vertimiento mediante pruebas estáticas sin renovación de la sustancia pura o efluente, que produce la muerte al 50% de los organismos expuestos en un tiempo de 96 horas.</p> <p>2. DEFINICIONES</p> <ul style="list-style-type: none"> ♣ Prueba Estática: Ensayo toxicológico en el cual no existe renovación de las soluciones test a lo largo de toda la prueba (corto tiempo de duración no más de 96 horas). ♣ Condiciones de la Prueba: Medición de parámetros de control después de cada una de las pruebas, con el fin de demostrar que la manifestación de los organismos expuestos se debe al efecto de las sustancias puras o vertimientos y no a alteraciones de las características fisicoquímicas de las mismas. Para ello se verifica el pH, el oxígeno disuelto y la dureza. ♣ Concentración Letal (CL₅₀₋₉₆): Concentración del compuesto tóxico que afecta al 50 % de la población de la especie modelo, causando su muerte, bajo condiciones de prueba en un tiempo de 96 horas. 		

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD DE LA SALLE</p> <p style="text-align: center;">Bogotá - Colombia</p>	 LB02
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	<p style="text-align: center;">ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS <i>(Oncorhynchus mykiss)</i></p>	<p style="text-align: center;">Página 2 de 8</p> <p style="text-align: center;">Versión 0</p>
<p>♣ Pruebas de Sensibilidad: Establecer la sensibilidad de las especies y su secuencia de efecto frente a un tóxico de referencia, según las repeticiones de las mismas; con esto se garantiza y certifica la confiabilidad de los datos en relación con la capacidad de respuesta de los organismos. Con las pruebas se determina el rango de sensibilidad frente al tiempo de exposición y de igual manera, se comprueba que la manifestación de los organismos expuestos se debe al efecto del tóxico de referencia y no a fallas operacionales en la aplicación del método, elaborando así cartas de control, teniendo en cuenta la precisión y exactitud que se deben y pueden obtenerse en los resultados generados por un determinado bioensayo. Los tóxicos de referencia a utilizar en estas pruebas pueden ser: NaCl, KCl o K₂Cr₂O₇.</p> <p>♣ Pruebas Preliminares: Pruebas de toxicidad donde se establece el rango de concentraciones de sustancias problema o vertimientos, en las cuales hay efectos observables en los organismos de prueba sin que se presente alta mortalidad.</p> <p>♣ Pruebas Definitivas: Pruebas de toxicidad que se realizan a partir de los resultados de las pruebas preliminares. En ellas se determinan si se pueden mantener las mismas concentraciones, o si es necesario cambiar el factor de dilución en algún intervalo u otro aspecto que resulte relevante.</p> <p>♣ Prueba de Toxicidad Aguda: El principio de esta prueba es determinar bajo condiciones específicas de una sustancia pura, o efluente, su letalidad al 50% de la población expuesta después de un período de exposición de 24, 48, 72 o 96 horas. Esta determinación se designa como la concentración letal media en el tiempo de exposición.</p>		

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB02
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Página 3 de 8 Versión 0

3. MATERIALES

CANTIDAD	MATERIAL
24	Peceras de 2,5L
2	Pipeteadores
6	Balones aforados de 1000ml
4	Pipetas aforadas de 25ml y 10 ml
1	Stand con 6 entrepaños
5	Mallas de recolección
1	Probeta de 1000ml

4. PRINCIPIO DEL MÉTODO

Las pruebas de toxicidad se realizan según la metodología CETESB, con el fin de exponer individuos de 15 días de nacidos a diferentes porcentajes de dilución de una sustancia de interés sanitario o de un vertimiento, determinándose la concentración que afecta al 50 % de la población del organismo de prueba Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), causando su muerte, en un tiempo determinado.

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Preparación de sustancias puras para pruebas de toxicidad agua

- ♣ Preparar la cantidad de toxico requerido, según los datos obtenidos estequiométricamente en 1L de agua destilada en un balón aforado de 1000 ml, a partir de esto realizar 5 diluciones siguiendo un factor de 10. (0.001, 0.01, 0.1, 1, 10).

5.2 Vertimiento

- ♣ Determinar el sitio de muestreo en la industria
- ♣ Realizar la caracterización fisicoquímica del agua residual, siguiendo los lineamientos de la EPA, (DQO, OD, pH, conductividad, sólidos suspendidos).
- ♣ Si es necesario efectuar un tratamiento a la muestra (filtración, precipitación, centrifugación) para facilitar el montaje de las pruebas de toxicidad.

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD DE LA SALLE</p> <p style="text-align: center;">Bogotá - Colombia</p>	 LB02
LABORATORIO DE BIOENSAYOS		Página 4 de 8 Versión 0

- ♣ Mantener refrigerada la muestra por un tiempo no mayor a 12 horas.
- ♣ Preparar diluciones partiendo del 100% del efluente y a partir de ella preparar soluciones de 20, 40, 60, 80 y 100% del efluente, diluyendo con agua declorinada a un volumen final de 2000 ml.
- ♣ Realizar las pruebas toxicológicas en un tiempo no mayor a 24 horas.

5.3 Montaje de la pruebas toxicológicas

- ♣ Colocar en un estante 24 peceras, distribuidos en cinco (5) concentraciones de las respectivas soluciones (pruebas de sensibilidad, sustancia pura, muestra analítica y un control de agua declorinada. (Figura 1)



Figura 1: Batería de ensayos

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB02
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Página 5 de 8 Versión 0

- ♣ Adicionar la cantidad indicada al realizar los cálculos de los diferentes porcentajes de concentración con ayuda de una pipeta graduada en las peceras mencionadas anteriormente, siendo preparadas cuatro (4) replicas por concentración, cada una con su respectivo control.
- ♣ Transferir a cada pecera 5 alevinos de trucha arco iris con ayuda de una malla, aclimatados 15 días previos a la prueba. Cada concentración necesita 20 organismos y en cada batería de ensayo se utilizan 120 organismos. (ver figura 2)



Figura 2: Alevinos por pecera

- ♣ Observar y tomar la lectura durante las 3, 6, 24, 48, 72 y 96 horas de los peces muertos en cada pecera, reportando los datos en el formato FLB002 “Registro de resultados por muestra analizada”.
- ♣ Realizar la medición de parámetros de control el pH y OD después de cada prueba, tomando de manera aleatoria cualquier concentración, con el fin de demostrar que la manifestación de los organismos expuestos se debe al efecto de las sustancias puras o vertimientos y no a alteraciones de las características fisicoquímicas de las mismas.
- ♣ Registrar y reportar los datos en la siguiente tabla:

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB02
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Página 6 de 8 Versión 0

Concentración	Replicas				Total muertos	% Mortalidad	pH	OD	Dureza
	A	B	C	D					

Tabla 1. Formato FLB 002. Reporte de datos de bioensayos

- ♣ Este procedimiento se realiza hasta encontrar los rangos de concentraciones que produce la muerte al 50% de los organismos, tanto para la realización de las pruebas definitivas de sensibilidad como para sustancias puras y vertimientos.

5.4 Pruebas de Sensibilidad

- ♣ Realizar las pruebas definitivas de sensibilidad con un patrón primario como es el Dicromato de potasio, siguiendo la metodología descrita anteriormente utilizando los rangos establecidos según los resultados en las pruebas preliminares.
- ♣ Los rangos de dicromato de potasio que producen la muerte al 50% de los organismos están entre 20 y 100 mg/L de dicromato de potasio. Con los resultados obtenidos entre este rango determinar la concentración letal media CL_{50-96} de cada prueba de sensibilidad por medio del “Método Probit” (Protocolo LB03): “Análisis de Regresión y análisis Probit”.
- ♣ Realizar una carta de control con los resultados obtenidos en las pruebas de sensibilidad y determinar la concentración letal media (CL_{50-96}) promedio para el dicromato de potasio, así como la desviación estándar, sus límites superior (promedio $+2(\sigma)$), e inferior (promedio $-2(\sigma)$).
- ♣ Estos resultados corresponden al intervalo de la concentración en el cual varía la respuesta de los organismos al tóxico de referencia, con una confiabilidad del 95%.

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	UNIVERSIDAD DE LA SALLE Bogotá - Colombia	 LB02
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Página 7 de 8 Versión 0

- ♣ La carta de control se debe realizar como mínimo con 20 pruebas de sensibilidad con el dicromato de potasio. Cada mes se genera una nueva carta de control. (Ver Figura 3)


	3 HORAS				6 HORAS				24 HORAS			
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Control												

	48 HORAS				72 HORAS				96 HORAS						
Concentración	N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° de organismos por pecera				N° Muertos	N° Total	% Mortalidad
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D			
Control															

Figura3: carta de control pruebas de toxicidad

5.5 Pruebas Definitivas

- ♣ Realizar las pruebas definitivas siguiendo la metodología descrita anteriormente utilizando los rangos establecidos según los resultados en las pruebas preliminares.
- ♣ Reportar estos resultados en el Formato FLB002
- ♣ Obtener la concentración letal media (CL_{50-96}) con su respectivo límite superior e inferior con una confiabilidad del 95% por medio del “Método Probit” (Protocolo LB03).
- ♣ Realizar el análisis de varianza (ANOVA) del resultado, con el procedimiento descrito en el Protocolo LB04: “Análisis de Varianza

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y SANITARIA	<p style="text-align: center;">UNIVERSIDAD DE LA SALLE</p> <p style="text-align: center;">Bogotá - Colombia</p>	 LB02
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	<p style="text-align: center;">ACLIMATACIÓN DE LA TRUCHA ARCO IRIS <i>(Oncorhynchus mykiss)</i></p>	Página 8 de 8 Versión 0
<p>5.6 Notas</p> <ol style="list-style-type: none"> a) La mortalidad en los controles no debe ser mayor al 10%. b) Si la mortalidad en el control sobrepasa el 10%, esta prueba se considera no representativa y se requiere la repetición de la misma. c) La concentración de oxígeno medida en el bioensayo después de 96 horas debe ser mayor de 2 mg/l. d) Se debe realizar semanalmente una prueba de sensibilidad con los rangos establecidos del dicromato de potasio; el resultado de la concentración letal media (CL₅₀₋₉₆) del tóxico de referencia debe estar dentro de los límites superiores e inferiores establecidos en la carta de control. <p>6. BIBLIOGRAFÍA</p> <ul style="list-style-type: none"> ♣ BERNAL, Y & ROJAS, A. 2007. ♣ ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). ♣ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Ed 20. 2005. ♣ ESCOBAR MALAVER, Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando <i>Daphnia Pulex</i> para la evaluación de muestras ambientales. Santafé de Bogotá; 1997. ♣ Guía para la realización de ensayos de toxicidad (Bioensayos) en organismos acuáticos. ♣ CETESB. Pruebas de Toxicidad aguda. Protocolos L5.017 y L5.022 1992 ♣ Proyecto CAR – BID – Contrato 298–94. Estudio de evaluación de toxicidad relativa de sustancias tóxicas en vertimientos y cuerpos receptores. <p>Elaborado: Pedro Miguel Escobar Malaver Yulie Andrea rivera Hoyos Diana Alexandra Molina Trujillo</p>		

