



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

EFFECTOS TOXICOLÓGICOS DEL CROMO, SOBRE *Daphnia magna*.

Autora

Daniela Alejandra Jácome Maldonado

Año
2019



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

EFFECTOS TOXICOLÓGICOS DEL CROMO, SOBRE *Daphnia magna*.

“Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos para optar por el título de Ingeniera Ambiental en Prevención y Remediación”

Profesor Guía

MSc. Indira Fernandina Black Solís

Autora

Daniela Alejandra Jácome Maldonado

Año

2019

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

Declaro haber dirigido el trabajo, 'Efectos toxicológicos del cromo, sobre *Daphnia magna*', a través de reuniones periódicas con el estudiante, Daniela Alejandra Jácome Maldonado, en el semestre 201920, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimientos a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

Indira Fernandina Black Solís

Máster en Conservación y Gestión del Medio Natural

CC: 171127356-3

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

Declaro haber revisado este trabajo, 'Efectos toxicológicos del cromo, sobre *Daphnia magna*', del estudiante Daniela Alejandra Jácome Maldonado, en el semestre 201920, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.

Christian Patricio Villamarín Flores
Doctor en Ecología Fundamental y Aplicada
CC: 1002339404

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.

Daniela Alejandra Jácome Maldonado

CC: 0604030502

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a mis padres por su amor infinito, guiar mi camino y ser mi apoyo en todo momento. A mis amigos incondicionales por ser un pilar fundamental durante estos 5 años, por caminar juntos y compartir tantos buenos y malos momentos.

A mis docentes: Indira Black, Pavlova Sigcha y Alejandro González por todo su apoyo, consejos y guía en mi vida profesional y a Cesítar Rojas por toda su ayuda y amistad.

A mis mejores amigas Majo, Gabi, Vane y Dani Zapata por siempre darme ánimos para seguir adelante y apoyarme en cada paso que doy.

DEDICATORIA

A mis padres y abuelita, que han sido mi ejemplo más grande de amor, lucha, perseverancia y dedicación.

RESUMEN

Las descargas incontroladas de aguas residuales a los cuerpos de agua se dan por la falta de planificación tanto tecnológica como industrial y además de una inapropiada zonificación. En el Ecuador, el Río Cutuchi que se encuentra entre la ciudad de Lasso y Latacunga, capta las descargas contaminantes de diferentes industrias, entre ellas la industria curtiembre. Durante el proceso de curtido de pieles se utilizan diferentes productos químicos como es la sal de cromo (III) que ayuda a acelerar el proceso, El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos toxicológicos del cromo, sobre *Daphnia magna*.

Se utilizó agua sintética elaborada en laboratorio y se utilizaron las siguientes concentraciones: T1 (testigo, agua reposada), T2 (0.03 mg/L), T3 (0.038 mg/L), T4 (0.1 mg/L) , T5 (0.2 mg/L), T6 (0.684 mg/L), T7 (0.8 mg/L) y T8 (1 mg/L). Las concentraciones del tratamiento 2, 3 y 6 se tomaron en base a los resultados obtenidos en el Río Cutuchi, el T3 representa el máximo permisible de cromo para la preservación de la vida acuática en cuerpos de agua dulce y las demás concentraciones se establecieron por medio de pruebas preliminares. Se ocupó sulfato básico de cromo ($\text{Cr}(\text{OH})\text{SO}_4$) y se realizaron 5 repeticiones por tratamiento en vasos de 100 ml y 10 réplicas por cada repetición. Se analizaron efectos letales (mortalidad) a las 24, 48 y 72 h y efectos subletales (movilidad) a las 6 horas y reproducción (a los 20 días)

De acuerdo con los resultados obtenidos, la mortalidad y reproducción presentó efectos negativos con el T8 (1 mg/L), sin embargo, la movilidad fue alterada (letargo) en todos los tratamientos menos en el testigo, evidenciando así que *Daphnia magna* presenta efectos significativos a medida que la concentración de cromo aumenta y el número de días de exposición.

Palabras clave: toxicidad, *Daphnia magna*, cromo.

ABSTRACT

Uncontrolled discharges of wastewater to water bodies occur due to lack of planning in both, technology and industry, in addition, proper zoning. In Ecuador, the Cutuchi river that is located in the cities of Lasso and Latacunga, captures the contaminating discharges of different industries, including the tannery industry. The objective of this study is to evaluate the toxicological effects of chromium on *Daphnia magna*.

Synthetic water, prepared in the laboratory, was used and the following concentrations were used: T1 (control, standing water), T2 (0.03 mg/L), T3 (0.038 mg/L), T4 (0.1 mg/L), T5 (0.2 mg/L), T6 (0.684 mg/L), T7 (0.8 mg/L) y T8 (1 mg/L). Treatment concentrations 2,3 and 6 were taken based on the results in the Cutuchi river, T3 represents the maximum allowable chromium for the preservation of aquatic life in freshwater bodies and the others were established by means of preliminary tests. The basic chromium sulfate- $\text{Cr}(\text{OH})\text{SO}_4$ was used and 5 repetitions were performed per treatment in 100 ml vessels and 10 replicates for each repetition. Lethal effects were analyzed at 24, 48 y 72 hours and sublethal effects (mobility) at 6 hours and reproduction (at 20 days).

According to the results obtained, mortality and reproduction had negative effects with T8 (1 mg/L), however, mobility was altered (lethargy) in all treatments except in the control, so evidence that *Daphnia magna* presents significant effects as chromium concentration increases and the number of days of exposure.

Keywords: toxicity, *Daphnia magna*, chromium.

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Alcance	3
1.3 Justificación.....	4
1.4 Objetivo General	6
1.5 Objetivos específicos.....	6
1.6 Hipótesis	6
2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 Ecosistemas lóticos.....	7
2.2 Contaminación	7
2.3 Cuenca del Río Cutuchi.....	8
2.4 La Industria curtiembre.....	10
2.4.1 Fase de ribera.....	10
2.4.2 Etapa de curtido.....	11
2.4.3 Etapa de acabado.....	12
2.5 Metales pesados	13
2.6 Cromo	13
2.7 Normativa ecuatoriana	14
2.8 Toxicología y ecotoxicología.....	15

2.9	Bioensayos de toxicidad.....	16
2.9.1	Tipos de bioensayo.....	16
2.10	Bioindicadores de calidad de agua.....	16
2.11	Curvas concentración-respuesta.....	17
2.12	Pulgas de agua.....	18
2.12.1	Taxonomía.....	19
2.12.2	Hábitat y distribución.....	19
2.12.3	Ciclo de vida, desarrollo y reproducción.....	20
3.	CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	21
3.1	Determinación de la concentración de cromo.....	21
3.1.1	Selección de los puntos de muestreo.....	21
3.1.2	Recolección y análisis de las muestras de agua.....	22
3.2	Crecimiento de <i>Daphnia magna</i> en laboratorio.....	24
3.3	Diseño experimental.....	25
3.3.1	Preparación de agua sintética.....	25
3.3.2	Variables independientes.....	25
3.3.3	Variables de respuesta.....	26
3.4	Análisis estadístico.....	28
3.5	Curva “concentración/ respuesta”.....	28
4.	CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	28
4.1	Caracterización del Río Cutuchi.....	28
4.2	Curvas concentración-respuesta.....	32

5. CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	36
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	39
6.1 Conclusiones	39
6.2 Recomendaciones	40
REFERENCIAS	39
ANEXOS	54

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

En América Latina, únicamente el 20% de las aguas residuales son tratadas a pesar de que la infraestructura existente en la región podría tratar el 30% (Arroyo, 2015). En el caso de Ecuador, el tratamiento de aguas es casi inexistente pues apenas el 10% de las aguas residuales son tratadas a nivel nacional (Cabrera, 2012).

67

La contaminación por residuos industriales se da por la falta de planificación, tanto tecnológica como industrial y una apropiada zonificación. Es así que, en el país, la cuenca del Río Cutuchi, que se extiende entre Lasso y Salcedo (Pozo, 2012) capta las descargas líquidas contaminantes de diferentes industrias locales (tejidos, curtiembres, papel y celulosa, conservas, etc.) y las descargas del alcantarillado de la ciudad, provocando una reducción de la calidad del agua tanto para los organismos que habitan ahí como para la salud humana, ya que sus aguas son usadas por el sector agrícola de la zona (Da Ros, 1995).

La contaminación ambiental por la industria del cuero se da principalmente por el uso de productos químicos que son usados durante el proceso. Los residuos principales de esta industria son: aserrín de cuero, carnazas, sulfuros, sales de cromo (Cr+3, Cr+6) y sólidos suspendidos totales lo que causa un pH ácido y alto DQO (Guzmán, 2010). Los diferentes procesos y operaciones que realizan las curtiembres generan diferentes líquidos y sólidos los cuales se caracterizan por tener alta carga orgánica además de la presencia de agentes químicos que pueden llegar a ser tóxicos como el cromo y el sulfuro (Otiniano, 2007).

Dentro del proceso de curtido de pieles se emplean dos métodos principales, el uno a base de sales de cromo y el otro a base de sales vegetales, la calidad del cuero que se genera depende del uso del Cr como agente ya que las sales generan un proceso de curtido más rápido y uniforme además que obtiene una mayor superficie,

es por este motivo que el 80% de las industrias dedicadas a esta actividad utiliza el proceso basado en sales de cromo (Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2015). El curtido vegetal utiliza taninos vegetales teniendo como fuente el extracto de quebracho, la mimosa y la corteza de acacia negra. Este proceso solía realizarse en pozos y duraba varias semanas, actualmente con el uso de tambores rotativos el proceso dura alrededor de 12 horas (Porras, 2010). Según la Clasificación Industrial Internacional Uniforme (CIIU) las actividades de curtido se encuentran dentro de la categorización C-1511. “La CIIU ha evaluado los impactos ambientales producidos por la industria de curtiembre determinando que los impactos negativos son significativos en cuanto a calidad de agua, pero no significativos respecto a la calidad del aire; como resultado final del proceso se obtuvo un -56.40 lo cual lo cataloga como impacto medianamente significativo de carácter negativo” (MAE,2012).

Las descargas incontroladas de cromo a ecosistemas acuáticos se deben a, que la mayoría de los colectores de agua no permiten la separación de efluentes urbanos e industriales, además, los sistemas depurativos convencionales de aguas residuales presentan un rendimiento medio para la remoción de cromo, por lo tanto, no se les considera eficientes para tratar este metal (Arauzo, 2003).

Un estudio realizado por Corredor (2006) en el área de Villapinzón, Colombia, indica los valores analizados de los diferentes parámetros fisicoquímicos de las aguas residuales de curtiembres de la zona obteniendo valores sumamente altos con respecto a la cantidad de cromo (3915 mg/l), DBO(9834.6 mg/l), DQO(20019.0 mg/l), conductividad (33407.9 S/cm), cloruros(9235.3 mg/l), sulfuros(355.3 mg/l), pH(11.5l) y sólidos suspendidos(13832.1 mg/l).

El cromo trivalente es capaz de precipitar rápidamente y ser adsorbido por partículas en suspensión y sedimentos al fondo, por lo tanto, se ha comprobado que se

acumula en diferentes especies acuáticas, principalmente en aquellas que se alimentan del fondo del cuerpo de agua (Chávez, 2010).

Existen estudios realizados sobre el efecto del cromo trivalente en diferentes especies tanto animales como vegetales, es así que Azario (2010) en su estudio mencionan sobre los efectos en el crecimiento de *Escherichia coli* donde se determinó que bajas concentraciones de cromo III no alteraron la curva de crecimiento del microorganismo, sin embargo, concentraciones altas (200-400 ppm) ayudaron al crecimiento bacteriano.

En el estudio realizado por Gagneten (2004) sobre los efectos de efluentes de curtiembre en la abundancia y riqueza de especies de zooplancton, se demostró que los puntos de muestreo más cercanos a la fuente contaminante, fue donde existió mayor concentración de cromo y la densidad de los organismos fue baja. Además, la riqueza de especies disminuyó notablemente en los sitios cercanos a la fuente. La concentración de cromo determinada en este estudio fue de 215 ug/L.

La toxicidad del cromo en los invertebrados de agua dulce es muy variada y la diferencia tóxica entre Cr (III) y Cr (VI) es insignificante, pues la DL50 durante una exposición de 96 horas varía entre 0.1 mg/l y 50 mg/l respectivamente. En cambio, los efectos tóxicos sobre los peces son menores que en los invertebrados con una variación de la DL50 entre 3.5 y 118 mg/L bajo las mismas condiciones (Pickering, 1966).

1.2 Alcance

En el presente estudio se analizó los efectos letales y subletales (tasa de natalidad y movilidad) del cromo, a nivel experimental de laboratorio en una población de *Daphnia magna* (Cladocera: Daphniidae). El estudio se realizó utilizando agua sintética elaborada en laboratorio, con diferentes concentraciones de Cr.

1.3 Justificación

Según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, por sus siglas en inglés (EPA), existen tres formas principales del cromo que son: cromo (0), cromo (III) y cromo (VI) (EPA, 2016); dentro de sus aplicaciones industriales está el uso de pigmentos de cromato en las pinturas, tintes, plásticos y tintas, el uso de cromatos como agentes anticorrosivos a pinturas, ácido crómico galvanizado en la fabricación de acero y en la preservación de madera (Molina, 2010). En general, se usa extensamente en procesos de manufactura y se encuentra en productos de consumo tales como: madera tratada con dicromato de cobre, cuero curtido con sulfato crómico, artículos de cocina de acero inoxidable, entre otros.

Uno de los metales pesados (MP) más vertidos al medio ambiente, es el cromo que al encontrarse como Cr^{3+} constituye un microelemento esencial; sin embargo, en presencia de materia orgánica y en condiciones ligeramente ácidas se transforma en Cr^{6+} , siendo este el causante de enfermedades respiratorias y alérgicas; así como un potente agente cancerígeno y mutagénico en los humanos (Benítez, 2011).

Cuando este compuesto ingresa al medio ambiente no permanece en la atmósfera, sino que se deposita en el suelo y el agua; posee, además, la capacidad de cambiar de una forma a otra en el agua y el suelo dependiendo de manera directa de las condiciones del sitio (pH y temperatura).

A pesar de que el cromo (III) es esencial en pequeñas cantidades para los seres humanos, en mayor proporción afecta el ciclo de la glucosa y el principal daño en el cuerpo se evidencia en la necrosis tubular (Esparza, 2013); el cromo VI es considerado como tóxico y cancerígeno siendo mutagénico en sistemas celulares de bacterias y mamíferos. Cuando estos compuestos son absorbidos por vía digestiva, respiratoria o cutánea son capaces de penetrar con facilidad el interior de los eritrocitos, que al combinarse con la fracción globínica de la hemoglobina

pueden llegar a producir un cuadro gastrointestinal con síntomas de: vómito, diarrea, dolores abdominales e incluso, hemorragias intestinales (Porras, 2010).

En los peces el exceso de cromo puede alterar el material genético produciendo aductos Cr-ADN, uniones ADN-proteínas y ADN-ADN (León, 2014). Existen estudios que han determinado una afectación en las agallas de los peces que se encuentran más cercanos a los puntos de descarga de las industrias, especialmente la curtiembre (Vera, 2014).

La industria de curtiembre ha sido evaluada como un potencial contaminante por cromo, ya que se estima que usa aproximadamente el 32% del cromo total mundial (Benítez, 2011). De acuerdo con la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (2011), la industria de la curtiembre es una de las más importantes en el Ecuador y su mayor concentración está en la provincia de Tungurahua, con el 90% de las empresas a nivel nacional.

Otro punto importante es que grandes volúmenes de agua son usados para diluir este contaminante y alcanzar los límites permisibles para descargas líquidas a cuerpos de agua. Por ejemplo, los procesos de acabado que usan cromo metálico consumen entre 2 y 20 L de agua por m² de superficie tratada, generando un efluente rico en cromo y las curtiembres consumen de 20 a 100 m³ de agua por tonelada de cuero crudo, generando aproximadamente 60 m³ de agua residual (Mosquera, 2007).

La falta de estudios sobre el efecto del Cr en ecosistemas lóticos y específicamente sobre poblaciones de *Daphnia magna* hicieron justificable el presente trabajo de investigación. *Daphnia magna* es un indicador utilizado a nivel mundial y propuesto dentro de los programas de Evaluación del Riesgo Ambiental, además de jugar un papel importante dentro de la cadena alimenticia como consumidor primario en los ecosistemas acuáticos (Cui, 2018).

1.4 Objetivo General

Evaluar los efectos toxicológicos del cromo sobre *Daphnia magna*.

1.5 Objetivos específicos

- Definir las concentraciones de cromo para la experimentación en base a las presentes en el río Cutuchi.
- Determinar los efectos letales y subletales en una población de *Daphnia magna* en relación a la concentración del cromo.
- Construir una curva concentración-respuesta de *Daphnia magna*, frente al cromo.

1.6 Hipótesis

Hipótesis nula (H₀₁)

Las respuestas subletales en poblaciones de *Daphnia magna* no varían en relación a la concentración de cromo en el agua.

Hipótesis alternativa (H_{i1})

Las respuestas subletales en poblaciones de *Daphnia magna* varían en relación a la concentración de cromo en el agua.

Hipótesis nula (H₀₂)

La mortalidad en poblaciones de *Daphnia magna* no varía en relación a la concentración de cromo en el agua.

Hipótesis alternativa (H_{i2})

La mortalidad en poblaciones de *Daphnia magna* varía en relación a la concentración de cromo en el agua.

2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Ecosistemas lóticos

Los ecosistema lóticos o fluviales se los puede definir como aquellos que fluyen a lo largo de un cauce (Vidal, 2005) tales como quebradas, ríos y riachuelos, en donde habitan diferentes comunidades biológicas de gran importancia como: macroinvertebrados, micrófitos, ictiofauna y perifiton. Del 3% del agua dulce disponible en el planeta, el 68% de esta se encuentra en los casquetes polares, el 30.1% en los acuíferos y únicamente el 1.2% está disponible en las aguas superficiales (Fernández, 2005). El Ecuador, de acuerdo con la Secretaría del Agua (2012) cuenta con 740 unidades hidrográficas alcanzando una extensión de 256.370 km².

2.2 Contaminación

La contaminación se define como la adición de elementos no necesarios al medio natural, lo cual es peligroso tanto para los seres humanos como para las plantas, vida acuática, suelo y otras formas de vida (Delgadillo, 2011). Existen diferentes razones para la contaminación del agua, pero la industrialización y la urbanización son las principales (Rokade, 2017).

La contaminación de los ecosistemas lóticos son producto del uso excesivo de plaguicidas y fertilizantes en las zonas cercanas a estos ecosistemas, además de, el mal manejo de aguas residuales, desechos tóxicos provenientes de las industrias principalmente, y, desechos sólidos (Rivas, 2009). Esto ocasiona cambios en las concentraciones de: dióxido de carbono, pH, temperatura, oxígeno disuelto y conductividad (Gutiérrez, 2014) Las comunidades presentes en estos ecosistemas suelen ser delicadas ya que un pequeño cambio en los parámetros de agua puede alterar la fisiología o la salud de las especies lo cual afecta directamente la abundancia relativa de las mismas, por lo tanto, todo el ecosistema se ve alterado (Sánchez, 2007).

La Secretaría Nacional de Agua del Ecuador, menciona que la contaminación de los recursos hídricos y la degradación de los ecosistemas son los principales problemas que afectan al país en temas de desarrollo sostenible, esto se da principalmente por el crecimiento poblacional, aumento de la demanda de agua, incumplimiento de las normas establecidas y la falta de aplicación de sanciones a los causantes de los diferentes impactos ambientales. Dentro del ámbito de la calidad del agua, existen tres motivos principales para su alteración: 1) vertimiento de aguas residuales, 2) disposición final de residuos sólidos y 3) disposición de agroquímicos y nutrientes de los suelos mediante procesos de escorrentía (Secretaría Nacional del Agua ,2012).

2.3 Cuenca del Río Cutuchi

La microcuenca del Río Cutuchi representa la mayor arteria fluvial para el cantón Latacunga ya que atraviesa el cantón de Norte a Sur recibiendo el aporte de varios afluentes (Lavenu, 1995). La oferta hídrica de esta cuenca está estimada en alrededor de 100 mm³ al año y su caudal es de 5.2 m³/s en su paso por la ciudad de Latacunga. La cuenca del río alberga varios acuíferos los mismos que son aprovechados mediante la utilización de pozos en distintos sectores. El Río Cutuchi posee una extensión de 11,77 km (Espín, 2016) y en el año 2009 se registraron 325 descargas de aguas grises al río. Es así que se han determinado tres principales orígenes de contaminación:

- Naturales
- Descargas puntuales domésticas
- Descargas puntuales industriales

En cuanto a las descargas industriales, en el río se presentaron concentraciones elevadas de arsénico y cromo sobrepasando los límites máximos permisibles establecidos por la normativa ecuatoriana, la fuente principal de estos contaminantes se presume, es la salmuera proveniente de los procesos de curtiembres (GADM Latacunga,2016).

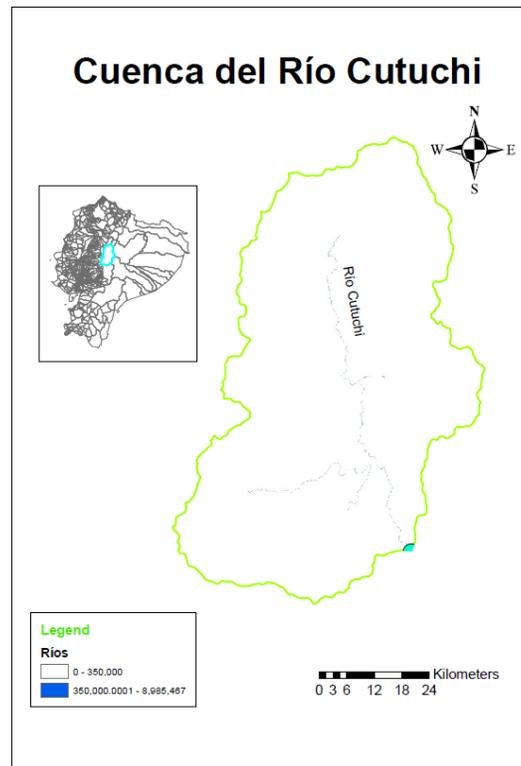


Figura 1. Cuenca del Río Cutuchi.

El río Cutuchi atraviesa el cantón Latacunga y el cantón Salcedo (Figura 1). La zona tiene una altitud de entre 2500 y 2680 m.s.n.m en donde se presenta un terreno ligeramente inclinado con pendientes de 0-5%. En cuanto a la taxonomía del suelo, se ha determinado que el orden predominante de la zona es el Molisol. De acuerdo con el Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del cantón Latacunga el 46.15% del suelo está destinado para el uso agropecuario (cultivos). De acuerdo con la Universidad Central del Ecuador (2015) las actividades contaminantes del río Cutuchi se dan principalmente por: curtiembres, procesadoras de metal y papel, minería, agricultura, casas de salud, empresas florícolas, lubricantes, lavadoras y mecánicas; desechos sólidos y colectores de aguas negras, los mismos que son considerados de alto riesgo además de la presencia de industrias de lácteos y embutidos representando un riesgo bajo en comparación a las anteriores.

2.4 La Industria curtiembre

El proceso de curtido de pieles consiste en, la transformación de la piel de ganado vacuno u otros animales en cuero, el mismo que posee características de flexibilidad, incorruptible y, además, inmune a ataques bacterianos (Ortiz, 2012). El proceso de curtido (Figura 2), generalmente posee tres etapas que son: 1) Fase de ribera, 2) Etapa de curtido, y 3) Etapa de acabado (Rosner, 2016).

2.4.1 Fase de ribera

Dentro de estos procesos se tienen los que permiten eliminar el pelo o lana de la piel usando sulfuro de sodio y cal, por lo tanto, es el proceso que consume mayor cantidad de agua y su efluente posee un elevado pH (MAE,2012). Además de, preparar a la piel para el proceso de curtido. Los diferentes procesos dentro de esta fase son los siguientes:

- **Recepción de materias primas:** A la llegada de la piel del animal a la curtiembre, se procede al recorte de las extremidades (cuello o cola) y luego se trata de dar a las pieles las condiciones de humedad necesarias por lo que en este proceso se genera gran volumen de agua residual (Universidad Nacional de Colombia, 2010).
- **Curado y desinfectado (salado):** Con el objetivo de deshidratar el cuero, se curan las pieles salándolas o secándolas en donde se ocupa la sal de dos formas diferentes: con salmuera o salazón húmeda. El método con salmuera es considerado el más rápido y, por lo tanto, el más usado. El proceso consiste en colocar las pieles en grandes cubetas que contiene desinfectantes, bactericidas y una solución de sal casi saturada, en donde para mejorar el contacto con la piel se debe agitar y dejar pasar por lo menos 16 horas para que las pieles absorban la sal (Salas, 2005).
- **Pelambre:** consiste en la disolución del pelo sumergiendo la piel en sulfuro de sodio y cal acompañado de una constante agitación, en donde además de retirar el pelo, en el interior del cuero se produce el desdoblamiento de las fibras a fibrillas lo cual prepara al cuero para la curtición (Palomino, 2016).

- **Desencalado:** durante este proceso se lava las pieles para remover el sulfuro y la cal utilizada en el proceso anterior. Para la cual es necesario el uso de sustancias químicas (sales de amonio, ácidos orgánicos tamponados, peróxido de hidrógeno, malazas y azúcares) para la preparación de soluciones (MAE,2012).
- **Descarnado:** consiste en eliminar de forma mecánica la grasa natural de las pieles con el objetivo de eliminar el tejido subcutáneo y adiposo y de esta manera poder tener una adecuada penetración de los productos químicos en la etapa de curtido (Universidad Nacional de Colombia, 2010).
- **Desengrasado:** en este proceso se utiliza kerosene, percloroetileno y monoclorobenceno para preparar soluciones en donde se sumerge la piel. Además, para la correcta limpieza de los poros se utiliza cloruro de amonio logrando con esto homogeneidad, elasticidad y tersura en toda la superficie de la piel (Zapata, s.f).
- **Piquelado:** Durante este proceso se prepara químicamente a la piel para el proceso de curtido con el uso de soluciones de ácido fórmico y ácido sulfúrico, la función de estos ácidos es de aportar protones para enlazar con el grupo carboxílico y de esta forma permitir la difusión del curtiente en la parte interna de la piel (Vargas, 2017).

2.4.2 Etapa de curtido

Durante en proceso de curtido, se utilizan dos técnicas: Una a base de sales de cromo y la otra a base de sales vegetales. Para el proceso de curtido vegetal se utilizan taninos aportando polifenoles y agentes astringentes, tiene una duración de entre una y dos semanas. Sin embargo, el proceso realizado a base de sales cromo es más rápido ya que se realiza en un período de 6 a 8 horas (Ortiz, 2012). Básicamente la calidad del cuero se da por el uso de cromo ya que garantiza la fijación del cromo en las proteínas de la piel y evita la descomposición (Ortiz, 2015).

- **Escurrido:** se deja reposar los cueros con el fin de que se fije el curtiente y luego es llevado a una máquina escurridora eliminando de esta manera de un 50-80% de la humedad (MAE,2012).

2.4.3 Etapa de acabado

- **Re curtido, teñido y engrase:** antes de empezar estas etapas el cuero es blanqueado con un ácido o blanqueador con el fin de dar un aspecto uniforme. El re curtido consiste en un proceso adicional opcional para mejorar la fijación del cromo. Para el teñido se aplican agentes químicos colorantes dando el acabado deseado y el proceso de desengrase se usa para evitar el cuarteamiento del cuero y que el mismo sea suave, flexible y fuerte (Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2011).
- **Secado:** durante este proceso es importante la velocidad del secado ya que puede afectar las partes internas del cuero. En algunos tipos de cuero, se utiliza la desecación adhesiva que consiste en colocar el cuero húmedo sobre planchas de vidrio y se seca estirando el cuero.
- **Acabado:** incluye procesos de planchado y clasificación.

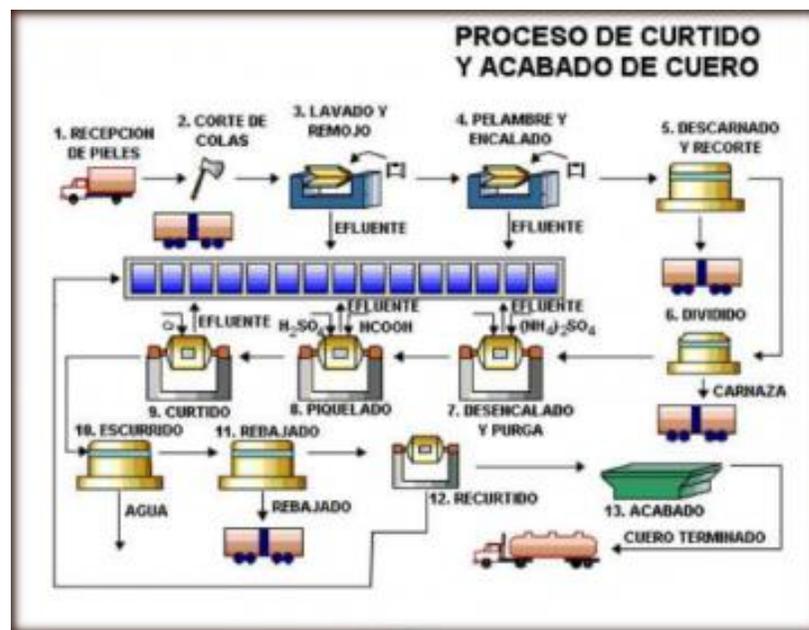


Figura 2. Proceso realizado por las curtiembres.

Tomado de (MAE, 2012)

2.5 Metales pesados

Los metales pesados constituyen un grupo de casi 40 elementos de la tabla periódica, los mismos que tienen una densidad mayor o igual a 5 g/cm^3 (Lucho, 2005). La contaminación por metales pesados se ha convertido en un problema serio tanto para el ambiente, como para la salud humana. Este problema radica en la liberación de concentraciones provenientes de procesos industriales que exceden los niveles permisibles (Velma, 2009), causando desórdenes en los ecosistemas acuáticos y por lo tanto produciendo efectos asociados a los organismos y la cadena trófica (Molina, 2012)

Los metales pesados y sus efectos, se han venido estudiando durante los últimos 50 años y han cobrado importancia ya que, altas cantidades de estos han sido desechadas al ambiente y al no ser biodegradables, persisten durante largos períodos (Sabath, 2012). Pese a que muchos de estos son indispensables para el ser humano en bajas concentraciones (Rodríguez, 2016), se han identificado efectos genotóxicos en el ser humano ocasionados por el mercurio, cadmio y plomo (Calao, 2015). De igual manera en las plantas de rábano y zanahoria, el cadmio y zinc son bioacumulados en las hojas provocando un marchitamiento y disminución en la longitud de las raíces (Mendez, 2008).

2.6 Cromo

El cromo es un metal pesado, con número atómico 24 y perteneciente al grupo VIb de la tabla periódica (Cuberos, 2009), presenta estado de oxidación divalente Cr (II), trivalente Cr(III) y hexavalente Cr(VI), siendo Cr(III) y Cr (VI) sus estados de oxidación más estables. Es considerado uno de los contaminantes ambientales más comunes y la peligrosidad a la exposición depende del estado de oxidación en el que se encuentre (Rokade, 2017).

En la naturaleza, el cromo hexavalente es considerado como tóxico y carcinogénico siendo el responsable del cáncer de pulmón, daños en los riñones, úlceras crónicas y perforación del tabique nasal (Velma, 2009), pese a que es considerado un metal esencial en el metabolismo de la glucosa y juega un papel muy importante en la acción de la insulina (Gómez, 2004).

En las plantas, por ejemplo, del género *Arabidopsis*, este compuesto es capaz de afectar la raíz, amarillamiento de las hojas y afectar la producción del follaje (Ortíz, 2006). Así mismo en larvas de animales como el cangrejo (*Petrolisthes laevigatus*) se observaron malformaciones y atrofia en espinas laterales y dorsal (Lermanda, 2009).

2.7 Normativa ecuatoriana

En el Ecuador la normativa ambiental se rige por medio del Ministerio de Ambiente (MAE), es así que, el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio de Ambiente (TULSMA) contiene los criterios para calidad de agua, aire y suelo, en sus anexos, los mismos que fueron reformados por medio del Acuerdo Ministerial 097.

El Anexo I corresponde a Calidad del Agua, sin embargo, el parámetro de Cr no se encuentra establecido en los criterios de calidad de fuentes de agua para consumo humano y doméstico (Tabla 1). Por otro lado, la OMS establece el límite máximo permisible para cromo VI en agua potable con un valor de 50 µg/L. En la tabla 2 del Anexo I, correspondiente a los criterios de calidad para la preservación de la vida acuática, se indica un LMP de 0.032 mg/L de cromo total para agua dulce y 0.05 mg/L para agua marina y de estuario. Así mismo, en la tabla 8 y 9 (límites máximos de descarga al alcantarillado y límites máximo de descarga a un cuerpo de agua dulce, respectivamente), se establece un LMP de 0,5 mg/L de cromo hexavalente.

Tabla 1.

Límites máximos permisibles (LMP) de acuerdo al Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio de Ambiente (TULSMA), para el cromo.

Parámetro	Criterio de calidad	Expresado como	Unidad	Valor	Fuente
Cromo	Fuentes de agua para consumo humano y doméstico.	Cromo hexavalente	mg/L	0.05	TULSMA, Libro VI, Anexo 1, Tabla 1.
	Preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, marinas y de estuarios.	Cromo total	mg/L	0.032	TULSMA, LIBRO VI, ANEXO 1, Tabla 2
	Límites de descarga al sistema de alcantarillado público	Cromo total	mg/L	0.5	TULSMA, LIBRO VI, ANEXO 1, Tabla 8
	Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce	Cromo hexavalente	mg/L	0.5	TULSMA, LIBRO VI, ANEXO 1, Tabla 9

2.8 Toxicología y ecotoxicología

De acuerdo con la EPA (s.f) el concepto de toxicidad se refiere a la capacidad de una sustancia para ocasionar un efecto nocivo sobre un organismo y que, depende de la concentración y las propiedades químicas del compuesto.

La ecotoxicología se encarga de estudiar la polución en sistemas bióticos a manera de toxicidad, reducción de una determinada productividad, alteración de ciertas especies y sus efectos (Capó, 2003). También se basa en el supuesto de mencionar a los organismos como sensibles a ciertos contaminantes presentes en el ambiente de manera que sea factible establecer una correlación entre el tipo y grado de contaminación y su respuesta a variables biológicas (Ferrari, 2015).

2.9 Bioensayos de toxicidad

Los ensayos de toxicidad son herramientas de diagnóstico que sirven para evaluar el efecto de agentes físicos y químicos sobre diferentes organismos de prueba, los mismos que están sometidos a condiciones experimentales específicas y controladas (Valavanidis, 2015). Los efectos evaluados dentro de los ensayos pueden ser: crecimiento, mortalidad, proliferación, cambios fisiológicos, morfológicos e histológicos (Castillo, 2004).

2.9.1 Tipos de bioensayo

- **Subletales:** Se evalúan generalmente a largo plazo y se observan cambios morfológicos, reproductivos y de sobrevivencia, que se producen por debajo del nivel que causa la muerte (Valavanidis, 2015).
- **Agudos:** Se miden a las 24 o 48 horas y cuantifican las concentraciones letales de cierto compuesto o sustancia sobre una especie en particular. El valor calculado se denomina “concentración letal 50” y representa la concentración a la que el 50% de la población experimental muere (Silva, 2007).
- **Crónicos:** Generalmente son aquellos que miden el efecto durante el ciclo de vida de cierto organismos y la respuesta a analizar en esta tipo de bioensayo es la inhibición o aumento en las tasas reproductivas o de crecimiento del organismo (Flores, 1997)

-

2.10 Bioindicadores de calidad de agua

Se considera a un organismo como bioindicador cuando sus funciones vitales están relacionadas con ciertos efectos medioambientales sean de origen natural o antropogénico y que en base a esto se pueden utilizar para indicar la presencia de ciertos parámetros (Hawksworth, 2009).

Los bioindicadores de calidad de agua se clasifican en: indicadores de monitoreo e indicadores de prueba. Los primeros, ofrecen información sobre las condiciones del

sitio o ecosistemas y de factores como la humedad, pH, presencia de compuestos específicos y oxígeno y los bioindicadores de prueba son los usados bajo condiciones de laboratorio específicamente en el área de toxicología (García, 2017).

2.11 Curvas concentración-respuesta

La determinación de las curvas concentración-respuesta (Figura 3) sirven como base para la determinación del peligro/riesgo que generan las sustancias químicas presentes en el medio ambiente (Díaz, 2004).

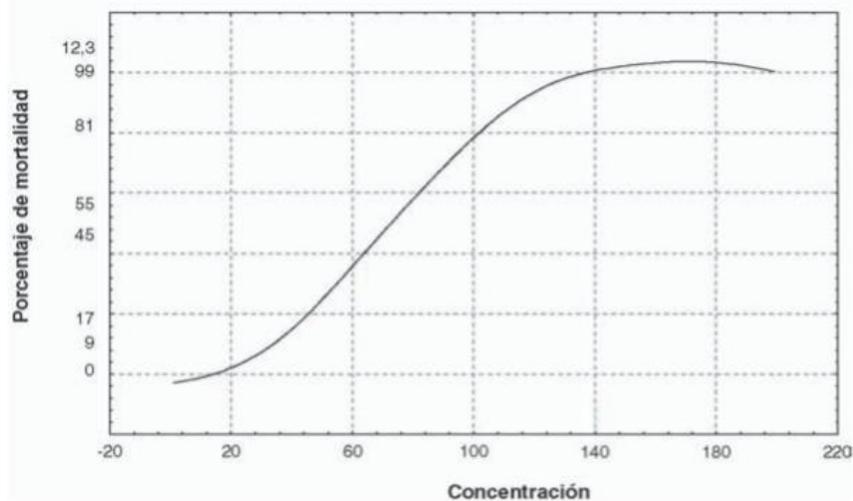


Figura 3. Relación dosis- respuesta

Tomado de (Díaz, 2004)

Existen diferentes formas de determinar la toxicidad y establecer las curvas concentración respuesta a diferentes niveles, por ejemplo:

NOAEL: Se define como el nivel de efecto adverso no observado (*no observed adverse effect level*), en el cual no existe estadística o biológicamente incrementos significantes en la frecuencia o severidad de los efectos adversos entre la población estudiada y el control (Alexeeff, 2001).

LOAEL: De acuerdo a sus siglas en inglés se define como "*lowest observable adverse effect level*", que establece la dosis más baja que puede causar efectos adversos perceptibles (Arrieta,2007).

CL50: Definida como la concentración estimada letal para el 50% de los organismos de ensayo.

CE50: Definida como la concentración efectiva o de inhibición media que afecta al 50% de los organismos de ensayo (Castillo, 2004).

CL25: Definida como la concentración estimada letal para el 25% de los organismos de ensayo.

CE25: Definida como la concentración efectiva o de inhibición media que afecta al 25% de los organismos de ensayo (Castillo, 2004).

2.12 Pulgas de agua

Daphnia magna es el crustáceo cladóceros planctónico (Núñez, 2005) conocido como pulga de agua gracias al comportamiento de salto que presentan cuando nadan. Se caracteriza por tener patas aplanadas para poder producir una corriente de agua, su tamaño varía de 0,5 a 0,6 mm y los machos se distinguen de las hembras al presentar un tamaño más pequeño, antenas más grandes y sus primeras patas poseen un gancho que les sirve para sujetar (Ebert, 2005).

Es usado en ensayos eco toxicológicos gracias a su fácil establecimiento en condiciones de laboratorio y corto ciclo de vida. Uno de los motivos principales por el cual se utiliza las pulgas de agua como bioindicadores es por su tipo de reproducción. Es decir, cuando se encuentra en condiciones favorables se reproduce mediante partenogénesis y cuándo las condiciones ambientales son desfavorables, se reproduce de manera sexual (Núñez, 2005).

En cuanto a su morfología (Figura 4), posee un cuerpo ovalado y lateralmente comprimido. Posee una concha no calcificada de quitina conocida como caparazón el mismo que es transparente. De adelante hacia atrás, posee 10 pares de apéndices, antenas con numerosas setas y ojo nauplio. Después de las antenas posee 5 o 6 extremidades en el tronco, las mismas que forman un aparato para la respiración y para la alimentación (Ebert, 2005).

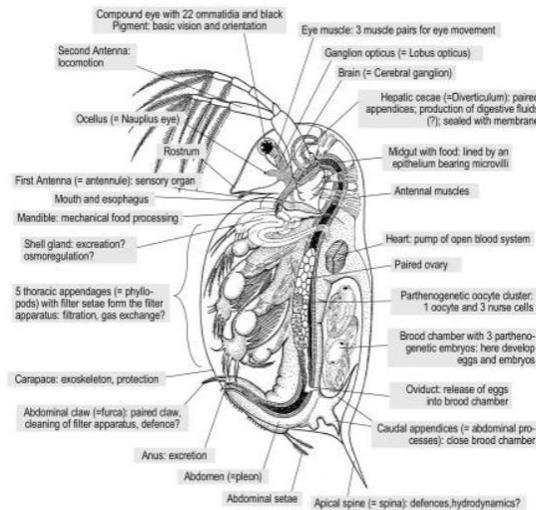


Figura 4. Anatomía funcional de *Daphnia magna*.

Tomado de (Ebert,2005)

2.12.1 Taxonomía

De acuerdo con la base de datos del Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS), por sus siglas en inglés, la clasificación taxonómica de *Daphnia magna*, es la siguiente:

Reino: Animal

Phylum: Arthropoda

Clase: Branchiopoda

Orden: Diplostraca

Suborden: Cladocera

Familia: Daphniidae

Género: *Daphnia*

Especie: *Daphnia magna* Straus

2.12.2 Hábitat y distribución

Puede encontrarse a nivel global ya que tiene una distribución cosmopolita (Kaya, 2013), principalmente se encuentran en lagos, charcos temporales, reservorios artificiales y aguas de desecho (FAO,1989). Se pueden encontrar abundante en

lugares que posee elevada concentración de materia orgánica donde proliferen bacterias, microalgas y levaduras. Los cuerpos de agua que poseen un pH entre 6.5 y 9.5 son aptos para el crecimiento de la mayoría de las especies incluyendo a las pulgas de agua y la concentración de sal debe estar por debajo de 1.5g/L, aunque *D. magna* puede tolerar concentraciones de sal de 6g/L (Ebert, 2005).

2.12.3 Ciclo de vida, desarrollo y reproducción

En la etapa de crecimiento, *D. magna* se caracteriza por reproducirse de manera asexual (Figura 5), las hembras producen un número de huevos mediante partenogénesis cuando llegan a la etapa de muda adulta. Este proceso está influenciado por las condiciones de alimentación. Los huevos se desarrollan de manera inmediata y se ubican en la cámara de cría, que se encuentra dorsalmente debajo del caparazón (Ocampo, 2010). A una temperatura de 20°C los embriones salen de los huevos, pero normalmente la madre libera a los embriones a los 3 días por medio de la flexión ventral del abdomen posterior. Una hembra adulta es capaz de producir huevos cada 3 o 4 días, con un total de 100 huevos en cada puesta, aproximadamente, hasta su muerte. Cabe mencionar que *D. magna* pasa por 6 o 7 estados juveniles antes de llegar a la etapa adulta, es decir cuando comienza a producir huevos (Ebert, 2005).

En condiciones no favorables para la población, como, por ejemplo, el aumento de la densidad poblacional ya que existe mayor competencia y menos disponibilidad de alimentos, disminución de la temperatura y la disminución de la duración del día juegan un papel importante en la inducción de la reproducción sexual de *D. magna*, en donde se producen huevos haploides (huevos en reposo) que necesitan machos diploides para poder fertilizar estos huevos. Para el proceso de fertilización, el macho copula a la hembra, este proceso se da de manera interna y ocurre entre el período de la muda y la deposición de huevos en el efipio o cámara protectora (Ebert, 2005).

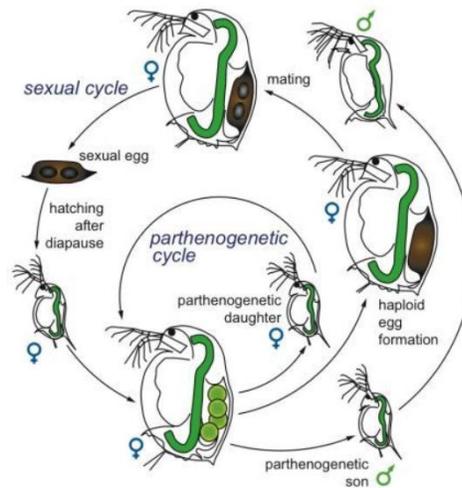


Figura 5. Ciclo reproductivo de *Daphnia magna*.

Tomado de (Ebert,2005)

3. CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

La presente investigación fue de tipo experimental, con el propósito de medir los efectos toxicológicos del cromo sobre *Daphnia magna*. Para lo que se ocupó sulfato básico de cromo- $\text{Cr}_2(\text{OH})\text{SO}_4$. El estudio se realizó en el laboratorio de Toxicología (LQ11) perteneciente a la carrera de Ingeniería Ambiental, en la Universidad de las Américas, Sede Queri.

3.1 Determinación de la concentración de cromo

3.1.1 Selección de los puntos de muestreo

Se tomaron tres puntos de muestreo en el río Cutuchi (Tabla 5), que se distribuyeron de la siguiente manera: en la zona de referencia (antes de la zona poblada de Latacunga) (P1), en la zona urbana con fuerte influencia de la industria curtiembre (P2) y en la zona de salida de la zona poblada (P3) (Figura 6). Además, se realizaron análisis in situ para la determinación de parámetros físico- químicos.

Tabla 5.

Puntos de muestreo establecidos en el Río Cutuchi.

Puntos	Coordenadas	
	Este	Sur
Punto 1	766250.00 m E	9917753.00 m S
Punto 2	764481.00 m E	9897362.00 m S
Punto 3	767342.73 m E	9885561.46 m S

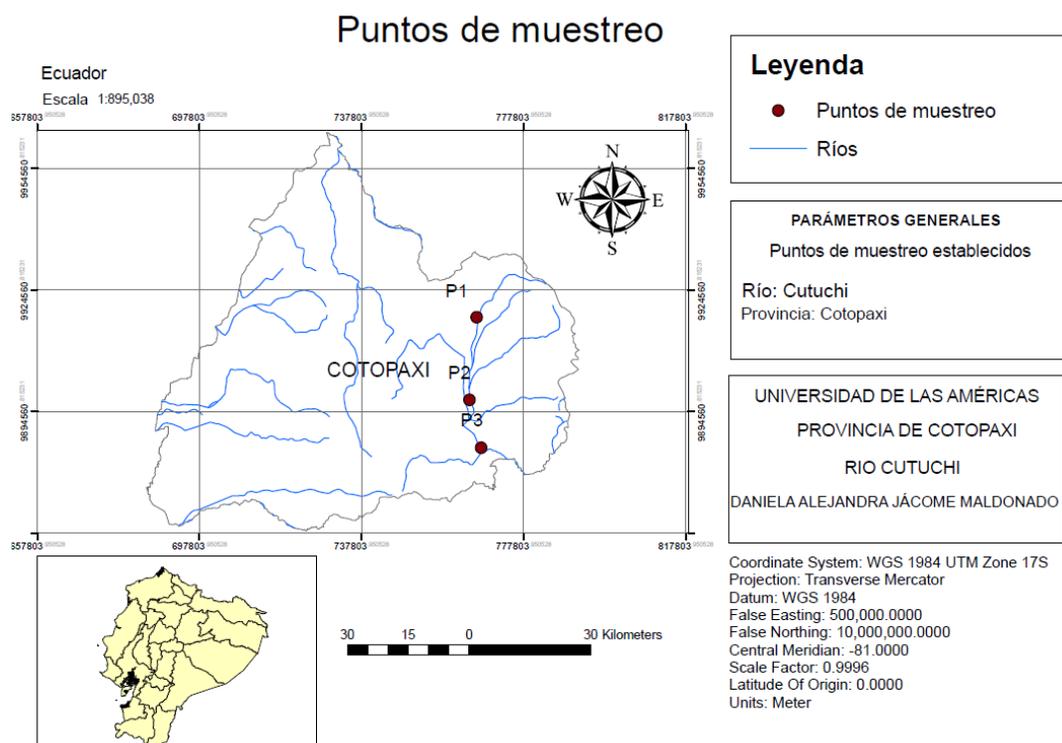


Figura 6. Puntos de muestreo establecidos en el río Cutuchi.

3.1.2 Recolección y análisis de las muestras de agua

3.1.2.1 Recolección

Las muestras de agua fueron tomadas de acuerdo a las disposiciones establecidas en la NTE INEN 2169 correspondiente al agua, calidad del agua, muestreo, manejo y conservación de muestras. Para los análisis de cromo la norma establece que se debe utilizar un recipiente de plástico o vidrio lavado con ácido. En cuanto a preservación de la muestra se debe enfriar entre 1°C y 5°C. El muestreo se realizó

de manera puntual y se tomó 2L de agua por cada punto establecido, basándose en la NTE INEN 2176. El transporte de las muestras se realizó de acuerdo a lo establecido en la NTE INEN 2169 literal 4.1.5.

3.1.2.2 Análisis in situ

En cuanto a los análisis en campo se midió pH, conductividad, %OD, temperatura ambiente y temperatura del agua (Gómez, 2017), ya que estos parámetros pueden presentar variaciones al poco tiempo de tomar la muestra (Pacheco, 1996). Las mediciones se realizaron con la ayuda del equipo multiparámetro (Marca HANNA Modelo HI9829 serie B0071225). Los equipos fueron proporcionados por el laboratorio de Ingeniería Ambiental-UDLA.

3.1.2.3 Análisis en laboratorio

La determinación de las concentraciones de Cr se realizó utilizando el espectrofotómetro de plasma de acoplamiento inductivo ICP-OES, en el laboratorio Ambiental de la Dirección de Investigación de la Universidad de las Américas.

3.1.2.4 Concentraciones para la experimentación

Una vez analizadas las muestras y realizadas las pruebas preliminares, se determinaron las concentraciones para la experimentación. Basándose en los criterios de calidad de agua, tanto para preservación de la vida acuática como para descargas a cuerpos de agua dulce y las concentraciones obtenidas en las muestras, se establecieron las siguientes concentraciones (Tabla 6).

La concentración 2 representa el LMP de cromo establecido en la tabla 2 del TULSMA (Libro VI, Anexo 1). La tercera concentración fue la obtenida en el P1 del Río Cutuchi. La concentración 6 representa la concentración más alta de cromo obtenida en los puntos de muestreo es decir el P3. Las demás concentraciones se establecieron por medio de ensayos preliminares, en donde a estas concentraciones se observaron efectos del cromo sobre la especie de estudio.

Tabla 6.

Concentraciones determinadas para la experimentación.

Nivel	Concentración (mg/L)
1	Testigo
2	0.03
3	0.038
4	0.1
5	0.2
6	0.684
7	0.80
8	1

Ya que se utilizó sal de cromo y se analizaron los efectos únicamente del cromo sobre *Daphnia magna*, se realizaron diferentes cálculos para conocer la cantidad exacta de sal a utilizar para obtener las concentraciones de cromo establecidas.

Los cálculos se presentan a continuación:

Reactivo: sulfato básico de cromo- $\text{Cr}(\text{OH})\text{SO}_4$

Peso molecular: $165,05 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$

Pureza del reactivo= 24-26%

$$\frac{1 \text{ mol } \text{Cr}_2\text{O}_3}{152 \text{ g}} * \frac{2 \text{ mol } \text{Cr}}{1 \text{ mol } \text{Cr}_2\text{O}_3} * \frac{51,99 \text{ g}}{1 \text{ mol } \text{Cr}} = 0,684 * 100 = 68,4\% \text{Cr en } \text{Cr}_2\text{O}_3$$

(Ecuación 1)

Para la concentración 2:

$$0,03 \text{ mg } \text{Cr} * \frac{100 \text{ g } \text{Cr}_2\text{O}_3}{68,4 \text{ g } \text{Cr}} * \frac{100 \text{ Cr}(\text{OH})\text{SO}_4}{25 \text{ g}} = 1,754 \text{ mg } \text{CrOHSO}_4$$

(Ecuación 2)

3.2 Crecimiento de *Daphnia magna* en laboratorio

De acuerdo con Sun (1991) el crecimiento y reproducción de *Daphnia magna* se da de manera normal entre los 15 y 31°C. Las daphnias fueron sometidas a un fotoperíodo 12-12 (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad) (Núñez, 2005). En

cuanto al alimento se utilizó el alga del género *Chlorella*. Para cada vaso precipitado se inocularon 10 *Daphnias* (neonatos) y el alimento fue proporcionado dos veces por semana (Ortega, 1998).

3.3 Diseño experimental

3.3.1 Preparación de agua sintética

Una vez determinadas las concentraciones de cromo de las muestras de agua y del agua de curtiembre, se procedió a trabajar con agua sintética, con el objetivo de analizar únicamente el efecto del Cr sobre la especie de estudio. El agua sintética se preparó utilizando agua potable reposada durante un período de 7 días para lograr la volatilización del cloro y evitar que tenga un efecto sobre las pulgas de agua. Luego de este período se procedió a añadir la solución de cromo hasta obtener las concentraciones establecidas.

Para la preparación del agua sintética se utilizaron balones aforados de 1L, balanza analítica, varillas de vidrio, agua destilada, sal de cromo, micropipetas y puntas. Los materiales fueron proporcionados por el laboratorio de la carrera de Ingeniería Ambiental de la UDLA.

Las repeticiones se realizaron en vasos precipitados de 100 ml y las pulgas fueron alimentadas con la ayuda de micropipetas. Es importante mencionar que, el pH del agua sintética fue medido varias veces durante la experimentación para de esta manera controlar que el cromo (III) no haya cambiado a cromo (VI).

3.3.2 Variables independientes

Tabla 7.

Variables independientes.

Factor	Concentración mg/L	Tratamiento	Repeticiones	Réplicas
	Testigo	T1 ^a		

	0.03	T2		
	0.038	T3 ^b		
Cromo	0.1	T4	5 repeticiones por tratamiento	10 réplicas por cada repetición
	0.2	T5		
	0.684	T6		
	0.8	T7		
	1	T8		

Nota: ^a Tratamiento 1: testigo, agua reposada, ^b Tratamiento 3: testigo, agua del Río Cutuchi

3.3.3 Variables de respuesta

- **Letales:** mortalidad

$$M_o = \frac{\# \text{ individuos muertos en un tiempo } (t)}{\# \text{ de individuos al inicio del experimento}} * 100$$

(Ecuación 3)

Para evaluar la mortalidad de la especie de estudio se realizaron observaciones en los siguientes tiempos:

Tabla 8.

Tiempos establecidos para observar mortalidad.

Nivel	Tiempo
T1	0 min
T2	5 min
T3	15 min
T4	45 min
T5	1 hora

T6	3 horas
T7	6 horas
T8	24 horas
T9	48 horas
T10	72 horas
T11	96 horas

- **Subletales:** movilidad y reproducción

Movilidad

La movilidad se observó en todos los tratamientos y en cada repetición en los siguientes tiempos: 0min, 5 min, 15 min, 45min, 1 hora, 3 horas y 6 horas.

Tabla 9

Valores establecidos para evaluar movilidad en Daphnia magna.

Indicador	Valor
Lenta	-1
Normal	0
Acelerada	1

Reproducción

La reproducción se observó en todos los tratamientos a los 20 días ya que ese es el período de reproducción de *Daphnia magna*.

3.4 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de las tres variables de respuesta se compararon con los valores del testigo (agua reposada) mediante el análisis ANOVA que fue realizado utilizando el programa estadístico InfoStat. Como primera parte se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks y luego el análisis de varianza mediante la comparación LSD Fisher con un índice de confianza del 95%.

3.5 Curva “concentración/ respuesta”

Para la determinación de las curvas concentración-respuesta se utilizó: LOAEL, NOEAL, DL50, CE50, DL25 y CE25. Se realizó una curva para mortalidad a las 24 y 48 horas.

4. CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Caracterización del Río Cutuchi

Los análisis in situ y ex situ realizados para los tres puntos de muestreo establecidos indicaron los siguientes valores.

Tabla 10.

Resultados in situ y ex situ obtenidos de los puntos de muestreo en el Río Cutuchi.

Parámetro	Unidad	Punto 1	Punto 2	Punto 3
pH	-	7.35	8.14	8.76
Temperatura	°C	15.17	17.19	16.97
%OD	%	38.2	38.8	84.2
Conductividad	µS/cm	634	826	529
Turbidez	FNU	10.9	41.1	106
Cr Total	mg/L	0.038	0.027	0.684

Como se puede evidenciar en la Tabla 10 los parámetros analizados cambian de acuerdo con los puntos de muestreo. En cuanto a la conductividad, se observó un valor más alto en el punto 2

Además de estos puntos se analizó una muestra de agua residual (AR) de curtiembre para determinar la concentración de cromo y comparar con la legislación

ambiental. El análisis fue realizado por la empresa LABOLAB y se obtuvo una concentración de 3416.25 mg Cr/L.

De acuerdo con la normativa ambiental ecuatoriana y a la Tabla 2 donde se encuentran los criterios de calidad de agua para preservación de la vida acuática, indica un valor máximo para cromo total de 0.032 mg/L por lo que, tanto el punto 1 como el punto 3 sobrepasan los límites máximos permisibles establecidos.

Efectos letales: mortalidad

Las tablas ANOVA presentadas a continuación, muestran la relación entre la concentración de cromo y la mortalidad a las 24 y 48 horas de comenzado el ensayo.

Mortalidad 24h

Tabla 11

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) a las 24 horas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5920.00	6	986.67	8.85	<0.0001
Tratamiento	5920.00	6	986.67	8.85	<0.0001
Error	3120.00	28	111.43		
<u>Total</u>	9040.00	34			

Tabla 12

Prueba LSD Fisher a las 24 horas.

Tratamiento	Medias	n	F.F	Agrupaciones		
1	2.00	5	4.72	A		
4	4.00	5	4.72	A	B	
2	4.00	5	4.72	A	B	
5	6.00	5	4.72	A	B	
6	16.00	5	4.72		B	C
7	28.00	5	4.72			C D
8	38.00	5	4.72			D

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Existen diferencias significativas en cuanto a la mortalidad y se observa que a medida que la concentración es más elevada existe mayor mortalidad. Para la

comparación se eliminó el tratamiento 3 correspondiente al agua del Río Cutuchi ya que se busca determinar los efectos únicamente del cromo sobre la especie de estudio y el tratamiento antes mencionado posee otra composición.

Los resultados obtenidos clasifican en 4 grupos siendo el grupo A y B los de menor concentración y menor mortalidad con un rango de 2 a 16% de individuos muertos y el grupo C y D los de mayor mortalidad con un rango de 16 a 38 % de individuos muertos siendo el tratamiento 8 (1 mg/L) el que presenta la concentración más letal para *Daphnia magna*, sin embargo, a las 24 h no se puede determinar DL50.

Mortalidad 48h

Tabla 13

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) a las 48 horas.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10754.29	6	1792.38	14.10	<0.0001
Tratamiento	10754.29	6	1792.38	14.10	<0.0001
Error	3560.00	28	127.14		
Total	14314.29	34			

Tabla 14

Prueba LSD Fisher a las 48 horas.

Tratamiento	Medias	n	F.F	Agrupaciones
1	4.00	5	5.04	A
2	6.00	5	5.04	A
4	16.00	5	5.04	A
6	18.00	5	5.04	A
5	18.00	5	5.04	A
7	44.00	5	5.04	B
8	54.00	5	5.04	B

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Los datos observados a las 48 h de iniciado el ensayo muestra valores más altos con respecto a mortalidad en comparación a los resultados obtenidos a las 24 horas.

En este caso se clasifican en dos grupos siendo los tratamientos 1,2,4,5 y 6 los presentan menor mortalidad. El grupo B correspondiente a los tratamientos 7 y 8 presentaron una mortalidad del 44 al 54%. Por lo tanto, la concentración más alta (1 mg/L) sigue siendo la más letal.

Efectos subletales: movilidad y reproducción

El análisis estadístico para la reproducción se realizó comparando el número de individuos a los 20 días y la concentración de cromo. Para el análisis se eliminó el tratamiento 7 que posee una concentración de 0.8 mg/L ya que a esta concentración no se evidenció reproducción. Los datos fueron normalizados antes de realizar el análisis de varianza.

Tabla 15.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) a los 20 días.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.52	6	0.42	3.49	0.0141
Tratamiento	2.52	6	0.42	3.49	0.0141
Error	2.62	22	0.12		
Total	5.16	28			

Tabla 16.

Prueba LSD Fisher para reproducción a los 20 días.

Tratamiento	Medias	n	F.F	Agrupaciones
8	1.19	3	0.20	A
5	1.37	4	0.17	A
6	1.60	4	0.17	A B
2	1.94	5	0.15	B
1	1.94	5	0.15	B
4	1.99	4	0.17	B

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Los resultados muestran diferencias significativas entre tratamientos evidenciando que el tratamiento 8 correspondiente a la concentración de 1 mg/L afectó en mayor proporción la reproducción de la especie estudiada obteniendo únicamente 3 neonatos en cambio las concentraciones más bajas y el testigo mostraron un promedio de 4 y 5 neonatos a los 20 días.

En cuanto a la movilidad, no se realizó un análisis de varianza ya que este efecto subletal fue medido a las 6 horas y en todos los tratamientos menos el testigo se evidenció letargo en las pulgas de agua, como se puede evidenciar en la siguiente tabla.

Tabla 17.

Resultados de movilidad obtenidos a las 6 horas por tratamiento.

Tratamiento	Concentración	Movilidad 6horas
1	0	0
2	0.03	0
3	0.038	-1
4	0.1	-1
5	0.2	-1
6	0.684	-1
7	0.8	-1
8	1	-1

4.2 Curvas concentración-respuesta

Tabla 18.

Resultados del bioensayo con Daphnia magna obtenidos a las 6, 24 y 48 horas (mg/L).

Compuesto	6horas movilidad	24 horas mortalidad	48 horas mortalidad	natalidad
CL ₅₀	---	1.59	0.92	---

Cr(OH)SO ₄	CE ₅₀	0.03	---	---	0.1
	NOAEL	0.01	0.01	0.01	---
	LOAEL	0.03	0.03	0.03	---
	CL ₂₅		0.77	0.71	---
	CE ₂₅	0.03			0.1
	CL ₁₀		0.4	0.06	

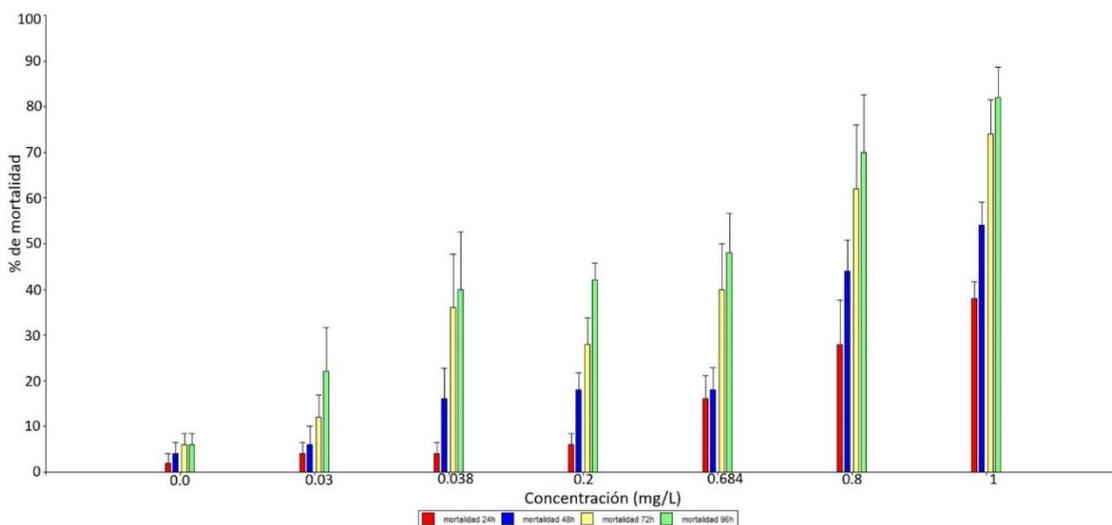


Figura 7. Porcentaje de mortalidad a las 24,48,72 y 96 horas con respecto a la concentración.

La mortalidad se relaciona estrechamente con la concentración de cromo y el número de días (Figura 7). Los valores más altos se obtuvieron con el tratamiento 8 es decir, a una concentración de 1 mg/L. En el testigo, se observaron valores bajos de mortalidad lo que se presume se dio por diferentes factores ambientales presentes en el laboratorio donde se realizó la experimentación y por manejo de la especie.

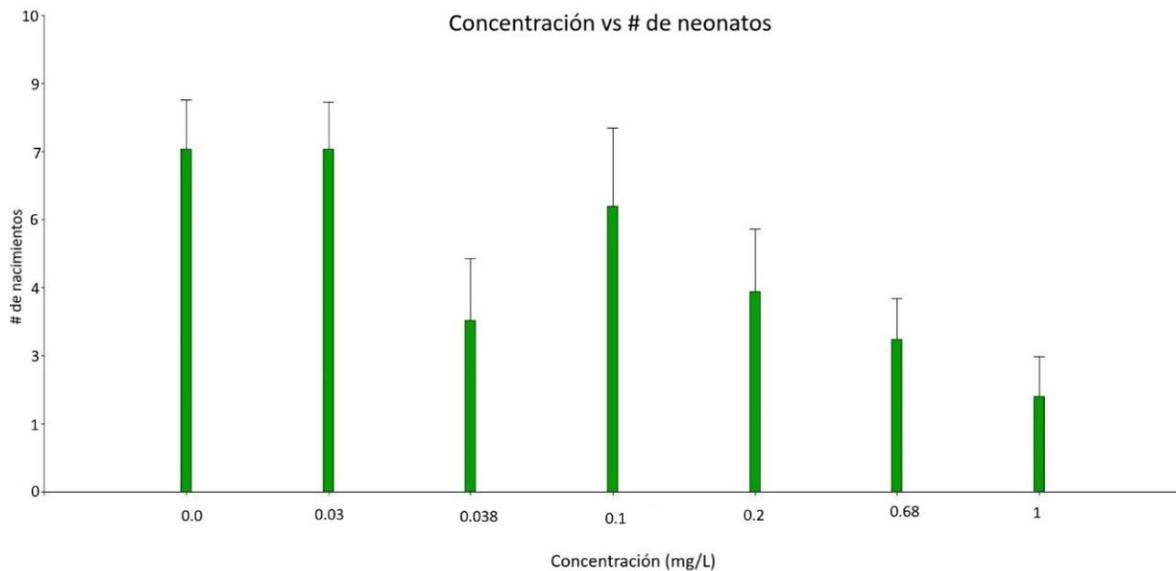


Figura 8. Número de nacimientos a los 20 días en relación a la concentración.

Cabe mencionar que en todos los tratamientos se evidenció mortalidad y alteración de la movilidad, presentando los valores más elevados a las 96 horas en todos los tratamientos analizados. Los tratamientos 6, 7 y 8 que corresponden a las concentraciones de 0.684, 0.8 y 1 mg/L respectivamente alcanzaron el 50% de mortalidad a diferentes tiempos para *Daphnia magna*. Además, en los tratamientos con concentraciones más bajas 0.03, 0.1 y 0.2 mg/L no se observó porcentajes elevados de mortalidad, sin embargo, los cambios en la movilidad fueron notorios para todos los tratamientos a partir de los 45 minutos de comenzado el ensayo como se puede observar en el Anexo 10.

De acuerdo con la Figura 8. Se evidenció mayor número de neonatos en los tratamientos más bajos menos el tratamiento 3 que corresponde al agua del Río Cutuchi ya que como se mencionó antes la composición del agua altera esta variable. Por lo tanto, a mayores concentraciones menor tasa de reproducción. Las concentraciones a las que la reproducción se vio afectada en mayor cantidad fue el

tratamiento 7 y 8 que corresponden a las concentraciones de 0.8 y 1 mg/L respectivamente.

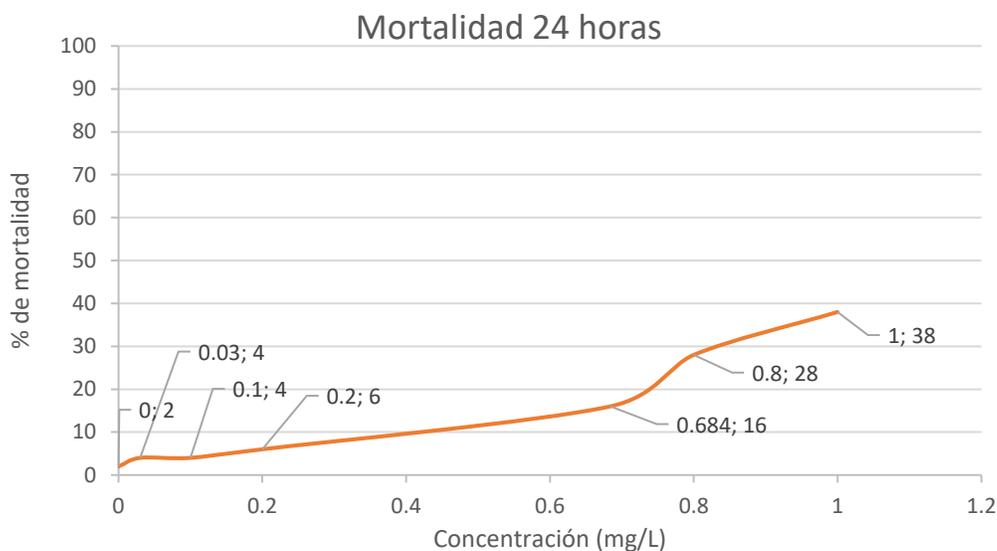


Figura 9. Curva concentración-respuesta a las 24 horas en relación a la mortalidad

Como se puede observar en la Figura 9 los valores de LOAEL, CL₂₅ y CL₁₀ coinciden con lo antes mencionado en la tabla 18.

En la Figura 10 se observan los valores obtenidos para mortalidad a las 48 horas en donde los valores establecidos para LOAEL, CL₅₀, CL₂₅ y CL₁₀ están de acuerdo a los establecido previamente y la concentración mayor (1 mg/L) presenta mayor porcentaje de mortalidad. El valor de NOAEL tanto para las 24 como para las 48 horas fue determinado en base a los ensayos preliminares realizados en donde a una concentración de 0.01 mg/L no se observaron efectos subletales (movilidad) ni efectos letales (mortalidad).

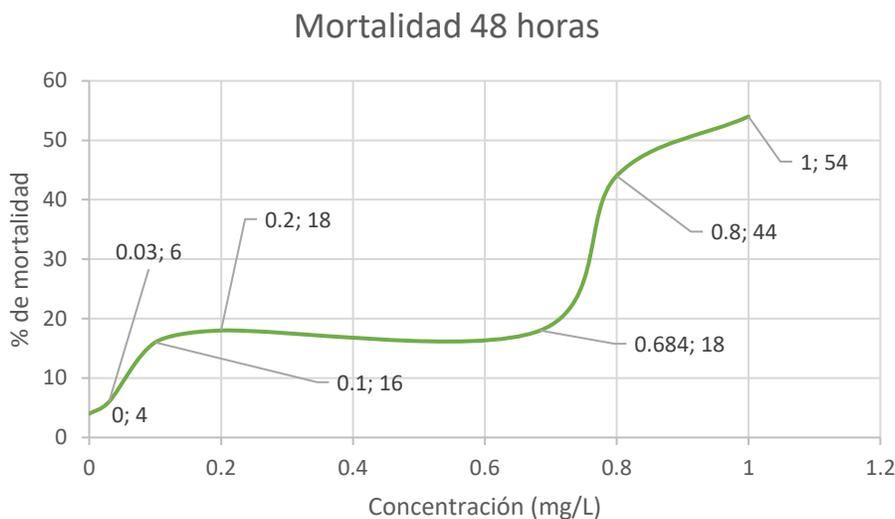


Figura 10. Curva concentración-respuesta a las 48 horas con relación a la mortalidad.

5. CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

La mayoría de los estudios y referencias encontradas analizan los efectos del cromo (VI) ya que el cromo (III) es considerado menos tóxico, por lo tanto, no existen muchos estudios sobre los efectos de este compuesto en *Daphnia magna*

Los resultados obtenidos muestran efectos toxicológicos de cromo (III) sobre *Daphnia magna*, siendo los más altos a 1 mg/L. En el estudio realizado por Biesinger (2011) se determinó la CL_{50} a una concentración de 2 mg/L (cromo VI) en tres semanas; Martínez (2006) de igual forma determinó una DL_{50} máxima a las 48 horas de 0.26 mg/L utilizando como contaminante de referencia cromo (VI), en cambio en este estudio la CL_{50} determinada a las 48 horas fue a una concentración de 0.92 mg/L (cromo III), por lo cual las pulgas de agua en este estudio mostraron mayor sensibilidad, sin embargo, Molina (2010) señala que el cromo(VI) es mucho más tóxico que el cromo (III).

Los efectos encontrados por Silva (2003) del dicromato de potasio en *Daphnia pulex* muestran una DL_{50} a las 24 horas de 0.183 mg/L demostrando que los efectos del cromo VI son más tóxicos a menores concentraciones en comparación a los resultados obtenidos con cromo (III). Para el mismo contaminante Martínez-Jerónimo (2008) determinó los efectos sobre *Daphnia exilis* obteniendo una DL_{50} a las 48 horas de 0.080 mg/L y un coeficiente de variación del 19.72%.

Un estudio realizado por Costa (2016) evaluó los efectos del dicromato de potasio sobre *Daphnia magna* donde a concentraciones de 1 mg/L (cromo VI) la reproducción se vio afectada, produciendo únicamente un promedio de 9 neonatos a los 21 días, lo cual difiere con los resultados obtenidos en este estudio que a 1 mg/L (cromo III) el promedio de neonatos fue de 3 a los 20 días, esto podría deberse a que la especie es muy sensible a los factores ambientales (Kungolos, s.f.). De acuerdo con Gorbi (1993) la exposición de *Daphnia magna* frente a cromo (VI) afecta la reproducción ya que a mayores concentraciones existe menos producción de ATP pero más cantidad de carbohidratos, lo que afecta directamente a la reproducción. Estos efectos se observan cuando el contaminante se encuentra presente en el agua, ya que los efectos no son los mismos si el alimento se encuentra expuesto a cromo (VI) ya que, al ser asimilado por las algas, el cromo (VI) se reduce intracelularmente y se transforma en cromo (III) el mismo que es asimilado en las vacuolas y no produce un efecto directo sobre las daphnias.

De Coen (1997) en su estudio con dicromato de potasio y el efecto en 5 enzimas digestivas de *Daphnia magna* mencionan que a concentraciones subletales (180, 100, 56 y 32 $\mu\text{g/L}$) existe un aumento de dos enzimas: β - galactosidasa y la tripsina lo cual se debe a una reacción inducida por el contaminante en donde esta enzima incrementa como respuesta a la absorción de alimento, la cual fue alterada y las daphnia sufrieron estrés tóxico y finalmente mueren.

Como se muestra en el Anexo 1, la mortalidad en el tratamiento 3 correspondiente al agua del Río Cutuchi, presentó valores más elevados que en la concentración máxima utilizada para la experimentación (1 mg/L cromo III), esto puede deberse a que en el agua del río a más del Cr se encontraron metales (Anexo 12) como: Pb, Sr, Zn, Mn, Cd, y Ba a concentraciones de 0.180, 0.501, 0.105, 0.080, 0.004 y 0.292 mg/L respectivamente, que pese a ser bajas, su efecto combinado pudo haber afectado en mayor intensidad a las pulgas de agua.

Los efectos sobre *Daphnia magna* frente a varios metales pesados ha sido estudiada durante mucho tiempo. Es así que, Yim (2006) determinaron la DL₅₀ utilizando cuatro metales pesados (Cd,Cu,Pb, Zn) en donde se obtuvieron los siguientes resultados: Cd (0.003 mg/L), Cu (0.004 mg/L), Pb (0.095 mg/L) y Zn (0.3 mg/L). De igual manera Cui (2018) analizó los efectos del Cd y Pb en *Daphnia magna* y *Daphnia galeata* determinando que no existen diferencias significativas entre ambas especies. La DL₅₀ determinada a las 48 horas fue de 0.11 mg/L para Cd y 0.47 mg/L para Pb.

Kim (2018) menciona también que los metales inactivos redox como el Pb y el Cd inducen al estrés oxidativo de *Daphnia magna* indirectamente debido al agotamiento de glutatión (GSH), inhibición de la transferencia de electrones y la inactivación de enzimas antioxidantes, sin embargo, cuando las especies reactivas de oxígeno (ROS) disminuyen son consecuencia de una respuesta antioxidante de la especie frente a la exposición de metales pesados, lo cual significa un debilitamiento del metabolismo. Así mismo, Patra (2011) explican que las respuestas antioxidantes son mecanismos secundarios y que estos ocurren luego de los cambios en la composición de los ácidos grasos o también se lo puede llamar el daño oxidativo intrínseco a la célula inducido por la exposición a metales pesados.

En cuanto a la movilidad de *Daphnia magna* en este estudio se evidenció alteración en la velocidad natatoria, obteniendo resultados de letargo para todos los individuos

y en todos los tratamientos menos el testigo, lo cual concuerda con Morgana (2018) quienes evaluaron los efectos del dicromato de potasio en *Artemia franciscana* a las 6h y se determinó una EC_{50} de 41.46 mg/L, por lo que se puede establecer que *Daphnia magna* es una especie mucho más sensible. Núñez (2005) determinaron la CE_{50} a las 24 y 48 horas en 0.4045 y 0.1857 mg/L de cromo VI respectivamente, lo cual contrasta con los resultados obtenidos en este estudio donde las concentraciones a estos tiempos fueron de 0.03 (24 horas) y 0.1 (48 horas), por lo que en este caso el cromo (III) resultó ser más tóxico para *Daphnia magna* que el cromo (VI). Como menciona Begum (2006) la alteración de la velocidad de nado de esta especie no se ha aclarado completamente pero se ha planteado la hipótesis que el estrés oxidativo inducido por ciertas sustancias puede ocasionar reducción de la velocidad de nado ya que esto se ha demostrado en otras especies animales como los peces (Jin, 2015) y puede ser también responsable de este efecto en el comportamiento de los crustáceos.

Los análisis de los parámetros fisicoquímicos realizados de las muestras de agua indicaron diferentes valores para cada punto de muestreo, es así que el punto 2 presentó el valor más alto en cuanto a la conductividad. Esto se debe a la alta presencia de MO y sólidos disueltos en la zona, ya que este punto correspondía a la zona urbana de la ciudad de Latacunga. Para el % de OD en el punto 3 este valor pudo darse debido al choque del agua con las rocas lo que produjo más oxigenación.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Daphnia magna presenta efectos toxicológicos en relación a la concentración de cromo utilizado durante la experimentación, a mayor concentración los efectos son mayores y se presentan en un menor tiempo.

En cuanto a los efectos letales el porcentaje de mortalidad es elevado en los tratamientos con concentraciones más altas, siendo el tratamiento 8 (1 mg/L) el más letal para *Daphnia magna* pues presentó una mortalidad de hasta el 54% a las 48 horas. En comparación con el testigo que presentó un máximo del 4% de mortalidad a las 48 horas. La mortalidad observada en el tratamiento 3 correspondiente al agua del Río Cutuchi se pudo dar debido a la presencia de diferentes metales.

La reproducción de *Daphnia magna* fue inhibida notoriamente a una concentración de 0.8 mg/L que corresponde al tratamiento 7 y a 1 mg/L, únicamente se observaron 3 neonatos a los 20 días y un porcentaje de supervivencia del 6%.

La movilidad de las pulgas de agua fue alterada en todos los tratamientos a las 6 horas de comenzado el ensayo y se evidenció letargo en casi todos los individuos menos en el tratamiento 1 que fue el testigo.

Las curvas de concentración-respuesta nos muestran correlaciones positivas ya que a medida que aumenta la concentración de cromo el porcentaje de mortalidad es más alto. Se pudo determinar la CL_{50} a las 24 y 48 horas con un valor de 1.59 y 0.92 mg/L respectivamente, CL_{25} a las 24 horas con un valor de 0.77 mg/L y a las 48 horas con un valor de 0.71 mg/L. La CL_{10} a las 24 y 48 horas se determinó un valor de 0.4 y 0.06 mg/L respectivamente.

La CE_{50} y CE_{25} se determinó para movilidad (6 horas) y natalidad (20 días) con una concentración de 0.03 y 0.1 mg/L respectivamente, para ambos casos.

6.2 Recomendaciones

Para desarrollar de mejor manera estudios futuros utilizando *Daphnia magna* como especie de estudio, se recomienda analizar otros efectos fisiológicos que podrían darse para tener una visión más amplia de cómo este compuesto químico afecta a las pulgas de agua.

Pese a que se realizaron varias pruebas preliminares para lograr establecer las concentraciones para la experimentación, se recomienda realizar varias pruebas con diferentes concentraciones ya que al ser una especie sensible a varios factores especialmente ambientales los resultados pueden variar de acuerdo a las condiciones a las que se encuentre.

Se recomienda realizar la experimentación en un lugar que no tenga influencia de otros compuestos o contaminantes en el aire, ya que estos pueden adherirse fácilmente a la superficie de agua donde se encuentran las pulgas de agua y la experimentación se vería afectada por estos factores y ya no únicamente por el contaminante a analizar, en este caso el cromo.

Alimentar las pulgas de agua con otra especie de alga o con otro alimento y analizar si esto tiene un efecto también en la reproducción y supervivencia de los individuos durante la fase de experimentación.

Realizar más ensayos utilizando Cr (III) o algún compuesto que contenga Cr (III) ya que los estudios del efecto de este contaminante sobre *Daphnia magna* son pocos y es necesario poder comparar resultados para determinar si la experimentación se está realizando de manera correcta o poder identificar por qué existen resultados diferentes.

REFERENCIAS

- Alexeeff, G., Broadwin, R., Liaw, J., y Dawson, S. (2001). *Characterization of the LOAEL-to-NOAEL uncertainty factor for mild adverse effects from acute inhalation exposures. Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 36(1), 96–105. <https://doi.org/10.1006/rtph.2002.1562>.
- Arauzo, M., Rivera, M., Valladolid, M., Noreña, C., y Cedenilla, O. (2003). Contaminación por cromo en el agua intersticial, en el agua del cauce y en los sedimentos del río Jarama. *Limnetica*, 22(3–4), 85–98. Recuperado el 10 de diciembre de 2018 de https://www.researchgate.net/publication/256493487_Contaminacion_por_cromo_en_el_agua_intersticial_en_el_agua_del_cauce_y_en_los_sedimentos_del_rio_Jarama
- Arrieta, J., y Luján, M. (2007). Caracterización de la generación y evaluación de riesgos de las pilas y baterías en desuso en la Ciudad de Cochabamba. *Acta Nova*, 3(4), 96–105. Recuperado el 07 de enero de 2019 de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1683-07892007000200002
- Arroyo, V., Ballesteros, M., y Mejía, A. (2015). Inseguridad Económica del Agua en Latinoamérica: de la abundancia a la inseguridad (p.8). Caracas: CAF. Recuperado el 04 de mayo de 2019 de <http://scioteca.caf.com/handle/123456789/787>
- Azario, R., Salvarezza, S., Ibarra, A., y García, C. (2010). Efecto del Cromo Hexavalente y Trivalente sobre el Crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 21(1), 51–56. <https://doi.org/10.1612/inf.tecnol.4150it.08>
- Begum, G., Rao, J., y Srikanth, K. (2006). *Toxicological & Environmental Chemistry Oxidative stress and changes in locomotor behavior and gill morphology of *Gambusia affinis* exposed to chromium. Toxicol and Environmental*

Chemistry, 88, 355–365. <https://doi.org/10.1080/02772240600635985>

- Benitez, N. (2011). Producción limpia y biorremediación para disminución de la contaminación por cromo en la industria de curtiembres. *Revista Del Doctorado Interinstitucional En Ciencias Ambientales*, (1), 25–31. Recuperado el 01 de abril de 2019 de https://www.researchgate.net/publication/307860796_PRODUCION_LIMPIA_Y_BIORREMEDIACION_PARA_DISMINUCION_DE_LA_CONTAMINACION_POR_CROMO_EN_LA_INDUSTRIA_DE_CURTIEMBRES_Cleaner_production_and_bioremediation_for_reduction_of_pollution_in_the_industry_of_ch
- Biesinger, K., y Christensen, G. (2011). *Effects of Various Metals on Survival, Growth, Reproduction, and Metabolism of Daphnia magna*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 29(12), 1691–1700. <https://doi.org/10.1139/f72-269>
- Cabrera, H., Garcés, M., y Paredes, P. (2012). Producción de Aguas Servidas, Tratamiento y Uso en el Ecuador. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Recuperado el 21 de abril de 2019 de <https://es.slideshare.net/CCIFEC/20-gestin-de-aguas-residuales-en-ecuador-senagua>
- Calao, C., y Marrugo, J. (2015). Efectos genotóxicos en población humana asociados a metales pesados en la región de La Mojana, Colombia, 2013. *Biomédica*, 35(0). <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2392>
- Capó, M. (2003). La ecotoxicología, una ciencia de hoy. *Medicina Balear*, 18, 101–104. Recuperado el 03 de junio de 2019 de http://ibdigital.uib.es/greenstone/collect/medicinaBalear/import/2003_v18_n3/Medicina_Balear_2003v18n3_p101.pdf
- Castillo, G. (Ed.). (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. México, México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.

Recuperado el 05 de junio de 2019 de <https://www.idrc.ca/sites/default/files/openebooks/147-7/index.html>

- Chávez, Á. (2010). Descripción de la nocividad del cromo proveniente de la industria curtiembre y de las posibles formas de removerlo. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 9 (17), 41-49. Recuperado el 07 de junio de 2019 de <https://revistas.udem.edu.co/index.php/ingenierias/article/view/6>
- Corredor, J. (2006). El residuo líquido de las curtiembres estudio de caso: Cuenca alta del Río Bogotá. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 16, 19–20. Recuperado el 15 de junio de 2019 de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91116203>
- Costa, R., Cristina, H., Vicentini, D., Fuzinato, C., Melegari, S., Schmidt, É., y Matias, W. (2016). *Ecotoxicology and Environmental Safety Synthesis , characterization and toxicological evaluation of Cr 2 O 3 nanoparticles using Daphnia magna and Aliivibrio fi scheri. Ecotoxicology and Environmental Safety*, 128, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.02.011>
- Cuberos, E., Rodriguez, A., y Prieto, E. (2009). Niveles de Cromo y Alteraciones de Salud en una Población Expuesta a las Actividades de Curtiembres en Bogotá, Colombia. *Revista de Salud Pública*, 11(2), 278–289. <https://doi.org/10.1590/s0124-00642009000200012>
- Cui, R., Kwak, J., y An, Y. (2018). *Comparative study of the sensitivity of Daphnia galeata and Daphnia magna to heavy metals. Ecotoxicology and Environmental Safety*, 162(June), 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.054>
- Cui, R., Kwak, J., y An, Y. (2018). *Ecotoxicology and Environmental Safety Comparative study of the sensitivity of Daphnia galeata and Daphnia magna to heavy metals. Ecotoxicology and Environmental Safety*, 162(6), 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.054>

- De Coen, W., y Janssen, C. (1997). *The use of bio markers in Daphnia magna toxicity testing: II digestive enzyme activity in daphnia magna exposed to sublethal concentrations of cadmium, chromium and mercury*. *Elsevier Science*, 35(5), 1053–1067. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00172-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00172-0)
- Da Ros, G. (1995). *La contaminación de aguas en Ecuador: Una aproximación económica*. (1.ª ed.). Quito: Editorial Abya Yala.
- Delgadillo, L., González, R., Prieto, G., Villagómez, I., y Acevedo, S. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(2), 597–612. Recuperado el 15 de mayo de 2019 de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-04622011000200002&script=sci_arttext
- Díaz, M., Bulus, G., y Pica, Y. (2004). Métodos estadísticos para en análisis de resultados de toxicidad. En: Castillo, G. (editora). *Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Agua*. Centro Internacional de Investigación para el Desarrollo, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México, 99-102. Recuperado el 10 de junio de 2019 de <https://www.idrc.ca/sites/default/files/openebooks/147-7/index.html>
- Ebert, D. (2005). *Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in Daphnia*. Bethesda(MD): National Center for Biotechnology Information (US). Recuperado el 01 de abril de 2019 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2036/>
- EPA, (2016). *Chromium compounds*, 1-3. Recuperado el 03 de abril de 2019 de https://www.epa.gov/sites/production/files/201609/documents/chromium_compounds.pdf.
- EPA, (s.f). Términos y definiciones. Recuperado el 10 de junio de 2019 de <https://espanol.epa.gov/espanol/terminos-t>
- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. (2015). *Evaluación del impacto ambiental de los procesos de ribera, curtido y acabados de pieles en la empresa ecuatoriana de curtidos Salazar*. (Tesis de pregrado). Escuela

- Superior Politécnica de Chimborazo. Recuperado el 02 de junio de 2019 de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/5235>
- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. (2011). Obtención de colágeno por hidrólisis alcalina-enzimática del residuo de “wet blue” en el proceso de curtición. (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Recuperado el 13 de junio de 2019 de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1630>
- Esparza, E., y Gamboa, N. (2013). Contaminación debida a la industria curtiembre. *Revista de Química*, 15(1), 41–63. Recuperado el 11 de junio de 2019 de <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/4756>
- Espín, M. (2016). Comportamiento iónico-pluvial en la cuenca del cutuchi durante invierno y verano 2013. *FIGEMPA*, 1. Recuperado el 23 de mayo de 2019 de <http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/RevFIG/article/view/45>
- FAO. (1989). La producción de alimentos vivo y su importancia en acuicultura. Recuperado el 10 de junio de 2019 de <http://www.fao.org/tempref/FI/CDrom/aquaculture/a0845t/volume2/docrep/field/003/ab473s/AB473S06.htm>
- Fernández, A., y Du Mortier, C. (2005). Evaluación de la condición del agua para consumo humano en Latinoamérica. *Tecnologías Solares Para La Desinfección y Descontaminación Del Agua*, 17–32. Recuperado el 15 de marzo de 2019 de https://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/01_Capitulo_01.pdf
- Ferrari, L. (2015). La Ecotoxicología Aplicada a La Evaluación De La Contaminación De Los Ríos: El Caso Del Río Reconquista. *Ciencia E Investigación*, 2, 17–35. Recuperado el 28 de marzo de 2019 de <http://aargentinpicias.org/wp-content/uploads/2018/01/RevistasCel/tomo65-2/3-Ferrari-cei65-2-3.pdf>

- Flores, I. (1997). Toxicología Acuática : retos y perspectivas en México. *Información Científica y Tecnológica*, 49–54. Recuperado el 14 de junio de 2019 de <http://www.redalyc.org/pdf/579/57945705003.pdf>
- GADM Latacunga. (2016). Plan de desarrollo y ordenamiento territorial (2016-2028). Recuperado el 17 de junio de 2019 de http://latacunga.gob.ec/images/pdf/PDyOT/PDyOT_Latacunga_2016-2028.pdf
- Gangneten, A., y Ceresoli, N. (2004). Efectos del efluente de curtiembre sobre la abundancia y riqueza de especies del zooplancton en el arroyo las Prusianas (Santa Fe, Argentina), 29, 704–706. Recuperado el 27 de mayo de 2019 de https://www.researchgate.net/publication/262709876_Efectos_del_efluente_de_curtiembre_sobre_la_abundancia_y_riqueza_de_especies_del_zooplancton_en_el_arroyo_las_prusianas_Santa_Fe_Argentina
- García, J., Sarmiento, L., Salvador, M., y Sabrina, L. (2017). Uso de bioindicadores para la evaluación de la calidad del agua en ríos: aplicación en ríos tropicales de alta montaña .*UG Ciencia*, 55–70. <https://doi.org/10.18634/ugcj.23v.0i.659>
- Gómez, J., Novelo, R., y Astudillo, M. (2017). Efecto de las descargas domésticas y de beneficio de café sobre la calidad del agua y la diversidad de larvas de Odonata (Insecta) en un arroyo de bosque mesófilo de montaña en Veracruz, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(2), 372–380. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.03.004>
- Gómez, A y Magaña, P. (2004). Papel del cromo y del cinc en el metabolismo de la insulina. *Revista Médica Del IMSS*, 42(4), 347–352. Recuperado el 10 de marzo de 2019 de <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2004/im044l.pdf>
- Gorbi, G., y Corradi, M. (1993). *Chromium Toxicity on Two Linked Trophic Levels. Ecotoxicology an Environmental Safety*, 25, 64–71.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1006/eesa.1993.1007>

- Gutiérrez, J., Zamora, H., y Andrade, C. (2014). Efecto de la actividad antrópica sobre la composición y diversidad de macroinvertebrados acuáticos en el río Cofre (sistema lótico andino colombiano). *Revista de Biodiversidad Neotropical*, 4(2), 113–123. Recuperado el 01 de julio de 2019 de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5168071>
- Guzmán, K., y Luján, M. (2010). Reducción de emisiones de la etapa de pelambre en el proceso de curtido de pieles. *Acta Nova*, 4, 464–492. Recuperado el 11 de mayo de 2019 de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1683-07892010000200002&script=sci_abstract
- Hawksworth, D., Iturriaga, T., y Crespo, A. (2009). Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 22(2), 71–82. [https://doi.org/10.1016/s1130-1406\(05\)70013-9](https://doi.org/10.1016/s1130-1406(05)70013-9)
- Integrated Taxonomic Information System. (2017). *Daphnia magna* Straus. Recuperado el 03 de junio de 2019 de <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt#nul>
- Jin, Y., Liu, Z., Liu, F., Ye, Y., Peng, T., y Fu, Z. (2015). *Neurotoxicology and Teratology Embryonic exposure to cadmium (II) and chromium (VI) induce behavioral alterations , oxidative stress and immunotoxicity in zebra fi sh (Danio rerio)*. *Neurotoxicology and Teratology*, 48, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2015.01.002>
- Kaya, M., Sargin, I., Tozak, K., Baran, T., Erdogan, S., y Sezen, G. (2013). *Chitin extraction and characterization from Daphnia magna resting eggs*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 61, 459–464. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.08.016>
- Kim, H., Kim, J., Kim, P., Won, E., y Lee, Y. (2018). *Comparative Biochemistry and Physiology , Part C Response of antioxidant enzymes to Cd and Pb exposure in water fl ea Daphnia magna : Differential metal and age*

- Specific patterns*, 209(March), 28–36.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2018.03.010>
- Kungolos, A., y Aoyama, I. (s.f.). *Interaction Effect, food effect, and bioaccumulation of Cadmium and Chromium for the System Daphnia magna- Chrorella ellipsoidea*. *Environmental Toxicity and Water Quality*, 8(1993), 351–369.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/tox.2530080402>
- Lavenu, A., Winter, T., y Dávila, F. (1995). *A Pliocene–Quaternary compressional basin in the Interandean Depression, Central Ecuador*. *Geophysical Journal International*, 121(1), 279–300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-246X.1995.tb03527.x>
- Leon, J., y Prieto, Z. (2014). *Variation of AgNOR parameters in erythrocytes of Oreochromis niloticus exposed to potassium dichromate*, 20–27. Recuperado el 04 de marzo de 2019 de https://www.researchgate.net/publication/317693033_ALTERACION_D_E_LOS_PARAMETROS_AgNOR_EN_ERITROCITOS_DE_Orechromis_niloticus_EXPUESTOS_A_DICROMATO_DE_POTASIO
- Lermada, M., Urrutia, C., Novoa, V., y Rudolph, A. (2009). Efecto del EDTA sobre la toxicidad del cromo (VI) en el desarrollo larval de *Petrolisthes laevigatus* (Guérin, 1835). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 44(1), 137–143. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572009000100013>
- Lucho, C., Prieto, F., Del Razo, L., Rodríguez, R., y Poggi, H. (2005). *Chemical fractionation of boron and heavy metals in soils irrigated with wastewater in central Mexico*. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 108(1), 57–71. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2004.12.013>
- MAE. (2012). Estudio para conocer los potenciales impactos ambientales y vulnerabilidad relacionada con las sustancias químicas y tratamiento de desechos peligrosos en el sector productivo del Ecuador. Ministerio de Ambiente del Ecuador. 127-134. Recuperado el 22 de marzo de 2019 de <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/03/PART2.pdf>

- Martínez, F., Martínez, L., y Espinoza, F. (2006). *Effect of culture conditions and mother ' s age on the sensitivity of Daphnia magna Straus 1820 (Cladocera) neonates to hexavalent chromium, 1820, 259–266.* <https://doi.org/10.1007/s10646-006-0057-5>
- Mendez, J., Ramírez, C., Gutiérrez, A., y Garcia, F. (2008). *Plant Contamination and Phytotoxicity Due To Heavy Metals From Soil and Water. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 10(1), 19–44.* <https://doi.org/1870-0462>
- Molina, C., Ibañez, C., y Gibon, F. (2012). Proceso de biomagnificación de metales pesados en un lago hiperhalino (Poopó, Oruro, Bolivia): Posible riesgo en la salud de consumidores. *Ecología En Bolivia, 47(2), 99–118.* Recuperado el 14 de marzo de 2019 de http://www.scielo.org.bo/pdf/reb/v47n2/v47n2_a03.pdf
- Molina, N., Aguilar, P., y Cordovez, C. (2010). Plomo, cromo III y cromo VI y sus efectos sobre la salud humana. *Ciencia & Tecnología Para La Salud Visual y Ocular, 8(1), 77–88.* <https://doi.org/10.19052/SV.831>
- Morgana, S., Estévez, N., Gambardella, C., Faimali, M., y Garaventa, F. (2018). *Ecotoxicology and Environmental Safety A short-term swimming speed alteration test with nauplii of Artemia franciscana. Ecotoxicology and Environmental Safety, 147(August 2017), 558–564.* <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.026>
- Mosquera, A., Campos, J., Vidal, G., y Méndez, R. (2007). Efluentes líquidos de curtidurías: parámetros de caracterización y de operación de las unidades biológicas de depuración, 21. Recuperado el 10 de marzo de 2019 de https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=h4h5Zel3howC&oi=fnd&pg=PA113&dq=flotacion+en+operaciones+unitarias&ots=UPLn1e1Rtr&sig=4Nkd_qwacxyE0nxSntu2_kHIEKk0#v=onepage&q=flotacion+en+operaciones+unitarias&f=false

- Núñez, M., y Hurtado, J. (2005). Bioensayos de toxicidad aguda utilizando *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Daphniidae) desarrollada en medio de cultivo modificado. *Rev. Peru. Biol. Rev. Peru. Biol*, 12(121), 165–170. <https://doi.org/10.15381/rpb.v12i1.2373>
- Ocampo, L., Botero, M., y Restrepo, L. (2010). Evaluación del crecimiento de un cultivo de *Daphnia magna* alimentado con *Saccharomyces cerevisiae* y un enriquecimiento con avena soya. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 23, 78–85. Recuperado el 12 de marzo de 2019 de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-06902010000100009&script=sci_abstract&tlng=es
- Ortega, A., y Reyes, H. (1998). Crecimiento poblacional de *Daphnia magna* Strauss bajo condiciones de cultivo. *Revista Ciencia y mar* (6): 3-6. Recuperado el 15 de abril de 2019 de <http://www.umar.mx/revistas/6/daphnia.pdf>
- Ortíz, R., Martínez, J., y Cervantes, C. (2006). Modificaciones en el desarrollo de la raíz inducidas por cromo en plantas de *Arabidopsis thaliana*. *Ciencia Nicolaita* 44: 107-120. Recuperado el 20 de marzo de 2019 de <https://www.redalyc.org/pdf/573/57311834002.pdf>
- Ortiz, N. (2012). Recuperación y reutilización de cromo de las aguas residuales de curtiembres de San Benito , Bogotá. *Intekhnia*, 7(2), 143–161. Recuperado el 10 de marzo de 2019 de <https://revistas.usantotomas.edu.co/index.php/intekhnia/article/view/452>
- Ortiz, N., y Carmona, J. (2015). Aprovechamiento de cromo eliminado en aguas residuales de curtiembres (san benito, bogotá), mediante tratamiento con sulfato de sodio. <https://doi.org/10.17151/luaz.2015.40.9>
- Otiniano, M., Tuesta, L., Robles, H., Luján, M., y Chávez, M. (2007). Biorremediación de cromo VI de aguas residuales de curtiembres por *Pseudomonas* sp y su efecto sobre el ciclo celular de *Allium cepa*. *Revista Médica Vallejana*, 4, 32–42. Recuperado el 10 de mayo de 2019 de <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rmv/v04n1/pdf/a04v4n1.pdf>

- Pacheco, J., y Cabrera, A. (1996). Efecto del uso de fertilizantes en la calidad del agua subterránea en el estado de Yucatán. *Ingeniería Hidráulica En México*. Recuperado el 15 de junio de 2019 de <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=REPIDISCA&lang=p&nextAction=Ink&exprSearch=50155&indexSearch=ID>
- Palomino, C., Vargas, R., y Visitaci, L. (2016). Aprovechamiento de pelos de vacuno del proceso de pelambre enzimático de las curtiembres en la remoción de plomo., *82(2)*, 183–195. Recuperado el 13 de mayo de 2019 de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2016000200009
- Patra, R., Rautray, A., y Swarup, D. (2011). *Oxidative Stress in Lead and Cadmium Toxicity and Its Amelioration. Veterinary Medicine International*. <https://doi.org/10.4061/2011/457327>
- Pickering, Q., y Henderson, C. (1966). *The acute toxicity of some heavy metals to different species of warm water fishes. Air Water Pollut 10:453–463*. Recuperado el 12 de junio de 2019 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5946974>
- Porras, Á. (2010). Descripción De La Nocividad Del Cromo Proveniente De La Industria Curtiembre Y De Las Posibles Formas De Removerlo. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, *9228(17)*, 41–50. Recuperado el 01 de julio de 2019 de <https://revistas.udem.edu.co/index.php/ingenierias/article/view/6>
- Pozo, C., y Velasteguí, R. (2012). Fitorremediación De Las Aguas Del Canal De Riego Latacunga-Salcedo-Ambato Mediante Humedales, 1–8. Recuperado el 04 de julio de 2019 de <https://www.buscagro.com/biblioteca/Ramiro-Velastegui/Fitorremediacion-de-agua-mediante-humedales.pdf>
- Rivas, Z., Sánchez, J., Troncón, F., Márquez, R., Medina, H., y Colina, M. (2009). *Total nitrogen and phosphorus from tributary rivers to the lake of maracaibo system , Venezuela, interciencia, 34*, 308-314. Recuperado el

04 de abril de 2019 de
https://www.researchgate.net/publication/289399397_Total_nitrogen_and_phosphorus_from_tributary_rivers_to_the_lake_of_maracaibo_system_Venezuela

- Rodríguez, A., Cuéllar, L., Maldonado, G., y Suardiaz, M. (2016). Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, 35(3), 251–271. Recuperado el 02 de mayo de 2019 de <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=70505>
- Rokade, P. (2017). *Impacts of Tannery Operations on Guppy, Poecilia reticulata*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-57654-1>
- Rosner, W. (2016). El Impacto Ambiental de las Curtiembres en Trujillo-Perú Author (s): Waltraud Rosner Published by: Pan American Institute of Geography and History Stable Recuperado el 15 de junio de 2019 de <http://www.jstor.org/stable/40992746>, 124(124), 57–77.
- Sabath, E., y Robles, M. (2012). Medio ambiente y riñón: Nefrotoxicidad por metales pesados. *Nefrologia*, 32(3), 279–286. <https://doi.org/10.3265/Nefrologia.pre2012.Jan.10928>
- Salas, G. (2005). Eliminación de sulfuros por oxidación en el tratamiento del agua residual de una curtiembre. *Revista peruana de Química e ingeniería química*, 8(1), 49-54. Recuperado el 01 de julio de 2019 de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/ing_quimica/v08_n1/pdf/a08v8.pdf
- Sánchez, O., Herzig, M., Peter, E., Márquez, R., y Zambrano, R. (Eds.).(2007). *Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México. Cuiculco*: Instituto Nacional de Ecología. Recuperado el 17 de febrero de 2019 de <https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2017/11/Perspectivas-sobre-conservaci%C3%B3n-de-ecosistemas-acu%C3%A1ticos-en-M%C3%A9xico.pdf>

- Secretaría Nacional del agua. (2012). Diagnóstico de la estadística del Agua en el Ecuador. Recuperado el 28 de julio de 2019 de: <https://aplicaciones.senagua.gob.ec/servicios/descargas/archivos/download/Diagnostico%20de%20las%20Estadisticas%20del%20Agua%20Producto%20Ilic%202012-2.pdf>
- Silva, J., Fuentealba, C., Bay-Schmith, E., y Larrain, A. (2007). Estandarizacion Del Bioensayo De Toxicidad Aguda Con Diplodon Chilensis Usando Un Toxico De Referencia .Gayana, 71(2), 135–141. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382007000200001>
- Silva, J., Torrejón, G., Bay-schmith, E., y Larrain, A. (2003). Calibracion del bioensayo de toxicidad aguda con daphnia pulex (crustacea : cladocera) usando un toxico de referencia. Gayana, 67(1), 87–96. <https://doi.org/10.4067/S0717-65382003000100011>
- Sun, M., Zhang, Y., y Cai, J. (1991). *Preliminary study of breeding and biology of Daphnia magna HB, a high temperature resistant species. Acta Hydrobiol.Sin. Shuisheng Shengwu Xuebao.* 15(2): 166-173. Recuperado el 05 de marzo de 2019 de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CN9285334>
- Universidad Central del Ecuador. (2015). Determinación de cromo, plomo y arsénico en aguas del canal de riego Latacunga- Salcedo- Ambato y evaluación de la transferencia de dichos metales a hortalizas cultivadas en la zona; mediante espectrofotometría de absorción atómica. (Tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador. Recuperado el 05 de marzo de 2019 de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6289>
- Universidad Nacional de Colombia. (2010). Estudio económico financiero del aprovechamiento de las rasas extraídas del residuo de descarte “unche” derivado del proceso de curtición en el municipio de Villapinzon-Cundinamarca. (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia.

Recuperado el 04 de junio de 2019 de <http://www.bdigital.unal.edu.co/3052/1/790655.2010.pdf>

Universidad San Francisco de Quito. (2011). Estudio de un Sistema físico-químico a escala prototipo de tratamiento de aguas residuales provenientes de una curtiembre. (Tesis de pregrado). Universidad San Francisco de Quito.

Valavanidis, A., y Vlachogianna, T. (2015). *Ecotoxicity Test Methods and Ecological Risk Assessment . Aquatic and Terrestrial Ecotoxicology Tests under the Guidelines of International Organizations. Science Advances on Environmental Chemistry, Toxicology and Ecotoxicology Issues*, 28. Recuperado el 06 de marzo de 2019 de https://www.researchgate.net/publication/281061444_Ecotoxicity_Test_Methods_and_Ecological_Risk_Assessment_Aquatic_and_Terrestrial_Ecotoxicology_Tests_under_the_Guidelines_of_International_Organizations

Vargas, D., Medina, D., y Amurrio, D. (2017). Alternativa de proceso de curtido con alto agotamiento de Cromo para las curtiembres tradicionales de la ciudad de Cochabamba. *Acta Nova*, 8(1), 3–30. Recuperado el 05 de marzo de 2019 de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1683-07892017000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Velma, V., Vutukuru, S., y Tchounwou, P. (2009). *Ecotoxicology of hexavalent chromium in freshwater fish: A critical review. Reviews on Environmental Health*, 24(2), 129–145. <https://doi.org/10.1515/REVEH.2009.24.2.129>

Vera, G., Tam, J., Vera, V., y Pinto, E. (2014). Pruebas ecotoxicológicas con cadmio y cromo usando postlarvas del pejerrey *Odontesthes regia regia* Hildebrand. *Revista Peruana de Biología*, 8(2). <https://doi.org/10.15381/rpb.v8i2.6715>

Vidal, R. (2005). *Limnología*. 1, 29(6), 7. Recuperado el 3 de agosto de 2019 de

<http://ocw.um.es/ciencias/ecologia/lectura-obligatoria-1/Vidal-Abarca2005.pdf>

- Yim, J., Kim, K., y Kim, S. (2006). *Effect of hardness on acute toxicity of metal mixtures using Daphnia magna : Prediction of acid mine drainage toxicity*, 138, 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.11.107>
- Zapata,L. (S.f). Manual Práctico de Curtido Natural de Cueros y Producción de Artesanías. *Faunagua*. Recuperado el 12 de julio de 2019 de <http://www.faunagua.org/biblioteca/manualArtesaniasLZapata.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Tabla de resumen de las concentraciones de cromo y el porcentaje de mortalidad a los cuatro tiempos.

Tratamiento	Repetición	Concentración	mortalidad 24h	mortalidad 48h	mortalidad 72h	mortalidad 96h
1	1	0	0	0	0	0
1	2	0	0	0	10	10
1	3	0	10	10	10	10
1	4	0	0	10	10	10
1	5	0	0	0	0	0
2	1	0.03	0	0	0	0
2	2	0.03	0	0	10	10
2	3	0.03	0	0	10	10
2	4	0.03	10	20	30	40
2	5	0.03	10	10	10	50
3	1	0.038	0	10	10	40
3	2	0.038	0	20	20	20
3	3	0.038	0	0	0	10
3	4	0.038	20	0	0	30
3	5	0.038	10	0	50	80
4	1	0.1	10	10	10	20
4	2	0.1	0	20	30	30
4	3	0.1	0	0	30	30
4	4	0.1	0	40	80	90
4	5	0.1	10	10	30	30
5	1	0.2	0	10	30	40
5	2	0.2	10	10	40	50
5	3	0.2	10	20	40	40
5	4	0.2	0	20	20	50
5	5	0.2	10	30	10	30
6	1	0.684	30	30	40	40
6	2	0.684	10	20	10	20
6	3	0.684	20	20	50	60
6	4	0.684	20	20	70	70
6	5	0.684	0	0	30	50
7	1	0.8	10	30	40	40
7	2	0.8	20	40	50	60
7	3	0.8	40	60	100	100
7	4	0.8	60	60	90	100

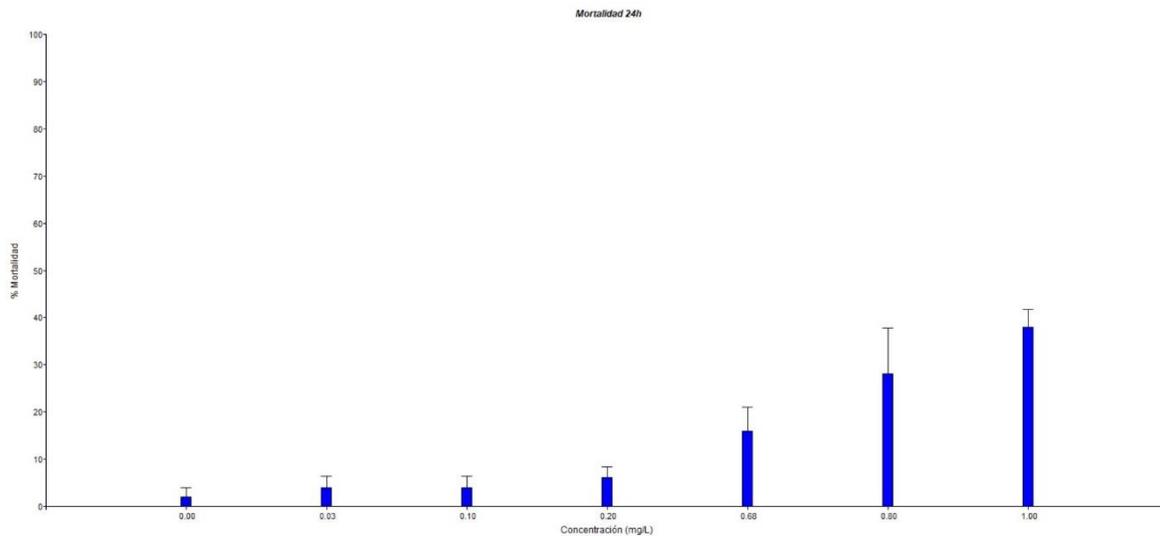
7	5	0.8	10	30	30	50
8	1	1	30	50	60	60
8	2	1	30	40	80	90
8	3	1	50	50	60	80
8	4	1	40	70	100	100
8	5	1	40	60	70	80

Anexo 2. Tabla de resumen de los resultados obtenidos de la reproducción de *Daphnia magna* y supervivencia a los 20 días de comenzado el ensayo.

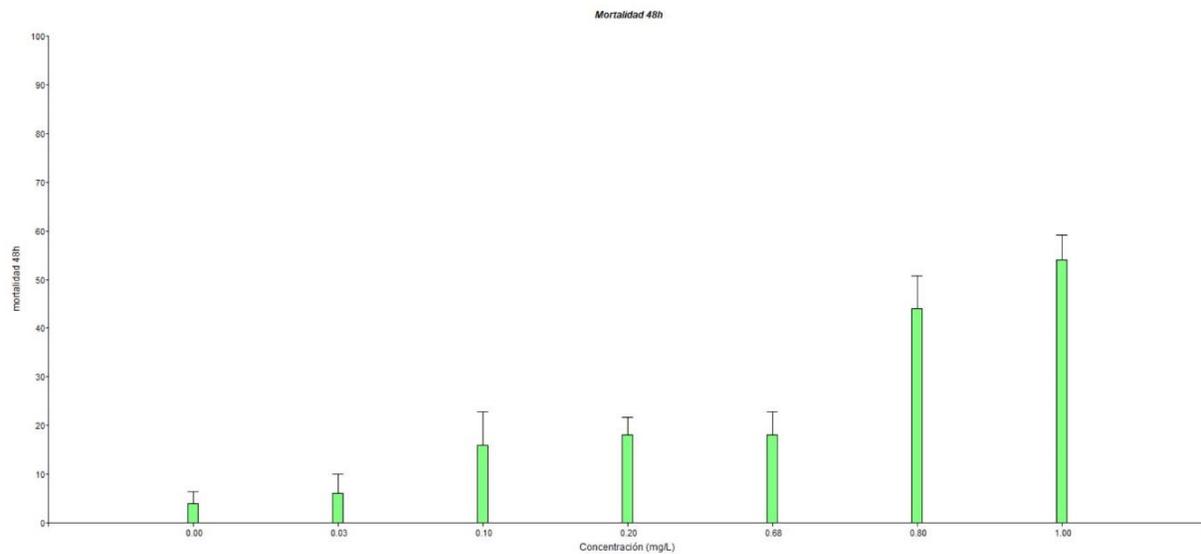
Tratamiento	Repetición	# nacimientos
1	1	7
1	2	6
1	3	7
1	4	5
1	5	11
2	1	5
2	2	8
2	3	10
2	4	5
2	5	8
3	1	7
3	2	3
3	3	2
3	4	6
3	5	0
4	1	5
4	2	8
4	3	8
4	4	0
4	5	9
5	1	5
5	2	8
5	3	5
5	4	0
5	5	3
6	1	0
6	2	4
6	3	3
6	4	4

6	5	5
7	1	0
7	2	0
7	3	0
7	4	0
7	5	0
8	1	0
8	2	3
8	3	3
8	4	0
8	5	4

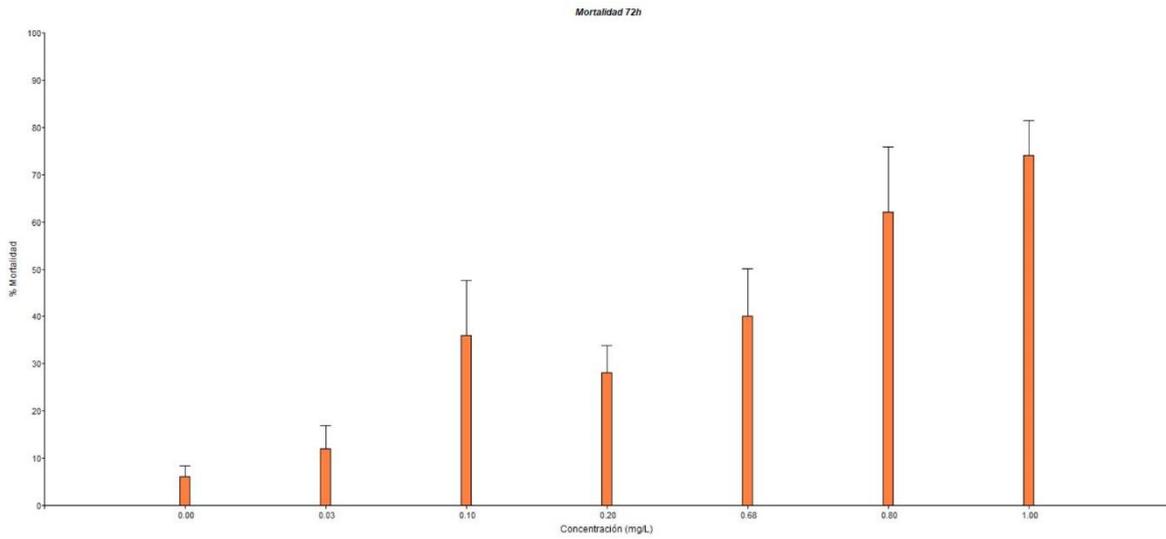
Anexo 3. Porcentaje de mortalidad observado a las 24 horas.



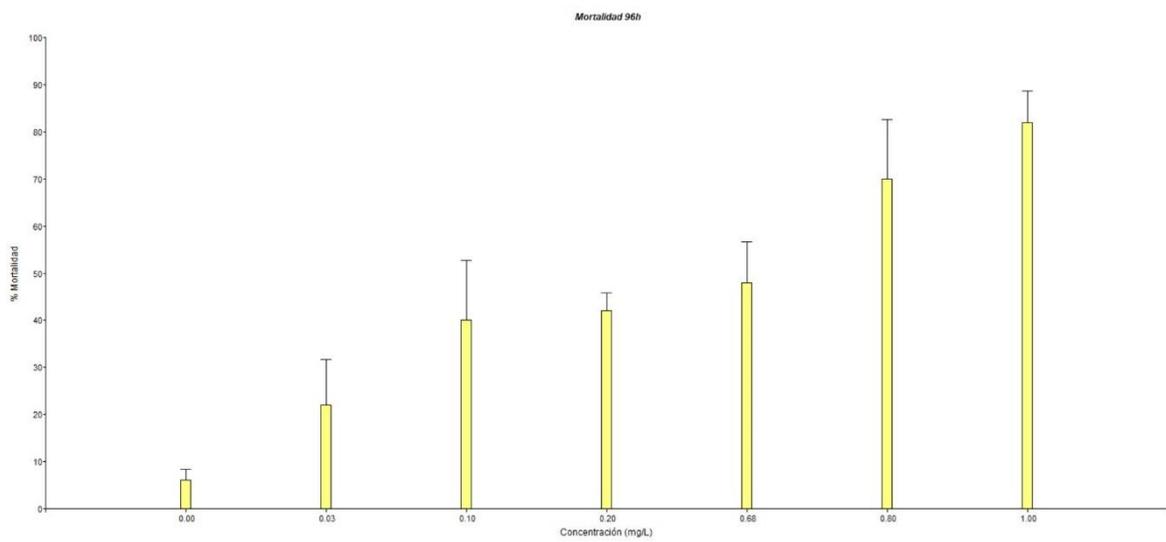
Anexo 4. Porcentaje de mortalidad observado a las 48 horas.



Anexo 5. Porcentaje de mortalidad observado a las 72 horas.



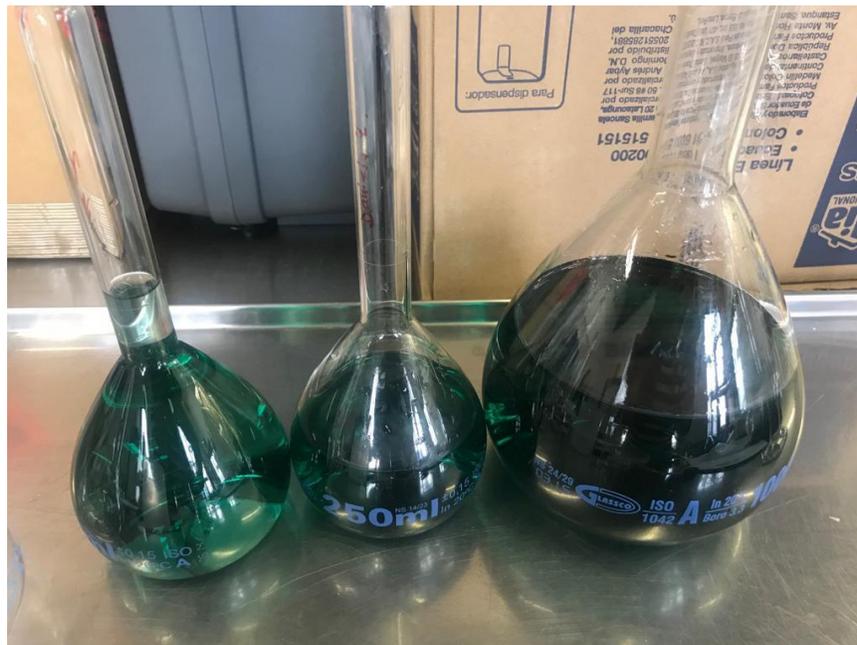
Anexo 6. Porcentaje de mortalidad observado a las 96 horas.



Anexo 7. *Daphnia magna* observada en laboratorio



Anexo 8. Preparación de soluciones de cromo.



Anexo 9. Tratamientos y repeticiones en el primer día de ensayo.



Anexo 10. Tabla de resumen de los resultados obtenidos de movilidad en todos los tiempos

Tratamiento	Repetición	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11
1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	0	0	0	-1	-1	-1	-1	-1
2	2	0	0	0	0	0	1	1	1	-1	-1	-1
2	3	0	0	1	0	0	-1	-1	1	0	0	0
2	4	0	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
2	5	0	0	0	0	-1	-1	-1	-1	0	0	0
3	1	0	0	0	0	0	-1	-1	0	0	0	0
3	2	0	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0
3	3	0	0	0	0	1	-1	-1	-1	0	0	0
3	4	0	0	0	-1	-1	-1	-1	0	0	0	0
3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	-1	-1	-1
4	1	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
4	2	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	-1
4	3	0	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
4	4	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
4	5	0	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1
5	1	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0
5	2	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1
5	3	0	0	0	0	0	-1	-1	1	1	1	1
5	4	0	0	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1
5	5	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1
6	1	0	0	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1
6	2	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1
6	3	0	0	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1
6	4	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1
6	5	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	1	1
7	1	0	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
7	2	0	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
7	3	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
7	4	0	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
7	5	0	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
8	1	0	0	0	-1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1
8	2	0	0	0	-1	-1	1	-1	1	-1	-1	-1
8	3	0	0	-1	-1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1
8	4	0	0	0	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1
8	5	0	0	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1

Anexo 11. Resultados del análisis de laboratorio de la muestra de agua residual de curtiembre.

LABOLAB
ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES
INFORME DE RESULTADOS

Orden de trabajo N° 191050
Hoja 1 de 1

NOMBRE DEL CLIENTE: Daniela Jácome
DIRECCIÓN: Av. 6 de Diciembre y Río Coca
MUESTRA: Agua curtiembre
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA: Líquido color verde azulado
FECHA DE RECEPCIÓN: 13 de febrero del 2019
FECHA DE TOMA DE MUESTRA: —
LOCALIZACIÓN: Salcedo
ENVASE: Frasco de vidrio
TOMA DE MUESTRA: Por cliente
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO: 13 - 18 de febrero del 2019
FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME: 18 de febrero del 2019
CONDICIONES AMBIENTALES: 24.8°C 52%HR

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	METODO
Cromo	3416.25	mg/l	APHA 3112 B Modificado

Cecilia Luzuriaga
Dra. Cecilia Luzuriaga
GERENTE GENERAL

LABOLAB
ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

El presente informe solo es válido para la muestra analizada.
Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.
Las opiniones e interpretaciones no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.

Anexo 12. Resultados del análisis de laboratorio de las muestras de agua del Río Cutuchi

		RESULTADOS ANALISIS DE METALES PPM/CP																								
Nombre del Solicitante:		Dirección de Tesis: India Bak																								
Fecha de entrega de muestras:		30/11/2019																								
Fecha de análisis:		30/11/2019																								
Condiciones de muestra:		Las muestras fueron entregadas en botellas ámbar de 1 L y preservadas con HNO ₃ al 67%.																								
Preparación de muestra:		Se tomó 46 ml de muestra de agua se añadió 5 ml de HNO ₃ al 67% libre de metales. Se digestó durante 30 minutos. Se filtró se acidó a 30 ml con agua tipo I.																								
Técnica utilizada:		ICP-OES (Flama Inductiva Acoplada)																								
Responsable del análisis:		Genoveva Gardo																								
		RESULTADOS METALES ppm (mg/L)																								
MUESTRA	PESOS VOLUMEN	DILUCIÓN	B	Sr	Ba	Sr	Ca	Co	Cr	Cu	K	Mn	Ni	Pb	Sr	Ti	Zn	Ca	Fe	Al	Mg	Li	Aq	Ga	In	Mn
PUNTO 1	4 ml	50 ml	1.538	0.252	ND	0.004	ND	0.008	0.066	13.517	0.030	0.001	0.180	0.180	0.571	ND	0.105	24.557	0.101	0.194	55.581	0.032	0.037	0.043	ND	38.038
PUNTO 2	4 ml	50 ml	1.389	0.363	ND	0.004	ND	0.008	0.066	21.230	0.630	0.004	0.172	0.756	ND	0.111	37.730	0.183	0.156	55.942	0.048	0.051	0.036	ND	43.338	
PUNTO 3	4 ml	50 ml	4.385	0.443	ND	0.004	ND	0.004	0.063	7.650	0.138	0.003	0.136	1.258	ND	0.068	50.431	0.063	0.184	56.173	0.049	0.079	0.047	ND	66.191	
Observaciones:																										
La muestra de cubiembre se diluyó 10 veces debido a la coloración que presentaba. Los resultados se encuentran multiplicados por el valor de dilución total.																										
T.M.: No detectado																										

