

**“EVALUACIÓN DEL POTENCIAL TÓXICO, EN
EFLUENTES DE TAMBOS DEL SUDESTE PAMPEANO,
MEDIANTE BIOENSAYOS CON *DAPHNIA MAGNA*”**

PÉREZ, Camila Kassandra

**TESINA PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE
INGENIERA EN RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE**

SANTA ROSA (LA PAMPA)
ARGENTINA

2024

Prólogo

Esta Tesina es presentada como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Ingeniero en Recursos Naturales y Medio Ambiente de la Universidad Nacional de La Pampa y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad ni en otra Institución Académica. Se llevó a cabo en el Pabellón Sur y Laboratorio de Ecología y Biotecnología, dependiente del Departamento de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Campo de Enseñanza de la UNLPam. durante el periodo comprendido entre el 12 de mayo de 2023 y el 30 de abril de 2024, bajo la dirección de la Dra. Ingrid Violeta Poggio Herrero y la codirección del Dr. Alberto Pilati.

Fecha: 30/04/2024



.....
Camila Kassandra Pérez

Agradecimientos

Quiero agradecer en primer lugar, a mis padres Delia y Juan por creer en mí y dedicar parte de su tiempo y medios para que pudiera venir a Santa Rosa a estudiar mi carrera, a mis hermanos Josué y Stefani, dos de mis personas favoritas, a las cuales extrañé mucho a lo largo de este camino, pero me apoyaron en todo momento para que siga adelante. A todas mis compañeras y amigas que hicieron de esta una experiencia tan especial y mucho más linda.

También a Camila Rodríguez que generosamente me guió y ayudó con el trabajo en laboratorio, a mi directora Violeta Poggio Herrero y codirector Alberto Pilati, por brindar su ayuda en la composición de este trabajo y a lo largo de todo el proceso; como asimismo al jurado Silvia Fanelli y Alberto Sosa, por sus valiosos aportes, y a otros tantos buenos profesores, profesionales, que siempre recordaré. ¡Gracias por sus ganas de enseñarnos, por transmitirnos sus conocimientos y apoyarnos en este difícil trayecto!

Y gracias a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, al Departamento de Recursos Naturales y la Universidad Nacional de La Pampa por brindarme el espacio físico y materiales para realizar los ensayos y la búsqueda de información específica.

Les agradezco de todo corazón por el acompañamiento a lo largo de esta hermosa etapa transitada.

Fecha: 30/04/2024



.....
Camila Kassandra Pérez

RESUMEN

La industria láctea, una de las actividades más importantes en Argentina, se intensificó durante los últimos años, lo que trajo aparejado una mayor generación de residuos sólidos y líquidos en las salas de ordeño. La mala gestión de estos efluentes líquidos produce potenciales riesgos al ambiente, que pueden darse a nivel puntual, como también en sitios más alejados, mediante drenaje superficial o por infiltración. Los efluentes cuentan con un alto contenido de nutrientes, pero además en su composición se encuentra una gran variedad de sustancias, las cuales los convierten en mezclas complejas potencialmente tóxicas. Por esta razón fue necesario identificar los impactos negativos que éstos generan en la biota. La toxicidad de estas mezclas se puede determinar mediante una batería de ensayos biológicos, utilizando diferentes organismos vivos, en este caso se empleó el bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia magna*, para efluentes provenientes de tambos de Guatraché, Atreucó y Hucal. Los neonatos de *D. magna* se expusieron a diferentes concentraciones de los efluentes, se evaluó su inmovilidad y determinó la CL₅₀ para cada muestra de tambo. Las CL₅₀ en su mayoría se encuentran entre 20-50, lo que permite clasificarlos como tóxicos o muy tóxicos para *D. magna*. El conocimiento del potencial tóxico facilita definir su peligrosidad y permite evaluar la disposición final y/o posibles usos que puedan darse a esas aguas residuales, entre estos su reuso como agua de riego.

Palabras clave: *Daphnia magna*, tambos, efluentes, toxicidad, bioensayos.

SUMMARY

The dairy industry, one of the most important activities in Argentina, has intensified in recent years, which has led to a greater generation of solid and liquid waste in milking parlors. The poor management of these liquid effluents produces potential risks to the environment, which can occur at the point level, as well as in more remote places, through surface drainage or infiltration. Effluents have a high nutrient content, but their composition also contains a wide variety of substances, which make them complex mixtures that are potentially toxic. For this reason, it was necessary to identify the negative impacts that these generate on the biota. The toxicity of these mixtures can be determined by means of a battery of biological tests, using different living organisms, in this case the acute toxicity bioassay with *Daphnia magna* was used, for effluents from Guatraché, Atreucó and Hucal dairy farms. *D. magna* neonates were exposed to different concentrations of the effluents, their immobility was evaluated, and the LC₅₀ was determined for each dairy sample. LC₅₀ are mostly between 20-50, which allows them to be classified as toxic or very toxic to *D. magna*. Knowledge of the toxic potential makes it easier to define its danger and allows us to evaluate the final disposal and/or possible uses that may be given to this wastewater, including its reuse as irrigation water.

Key words: *Daphnia magna*, dairyfarms, effluents, toxicity, bioassays.

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1. Hipótesis y Objetivos	2
2. Materiales y Métodos	4
2.1. Área de estudio.....	4
2.2. Toma de muestras y conservación	5
2.3. Organismo de referencia	6
2.3.1. Morfología y fisiología.....	6
2.3. Cultivo y mantenimiento de los organismos de referencia	7
2.4. Procedimiento de la prueba	7
2.5. Expresión de los resultados	8
2.5.1. Cálculo de la CL ₅₀	8
2.5.2. Cálculo de las UT	9
2.6. Caracterización de los tambos y sus efluentes	9
2.7. Análisis estadístico.....	9
3. Resultados	10
4. Discusión	14
5. Conclusión	16
6. Referencias	17

1. INTRODUCCIÓN

La industria láctea, como también la de sus derivados, es una de las actividades económicas más relevantes de Argentina y ha experimentado un proceso de intensificación en los últimos años. Acompañando el crecimiento de la industria láctea se incrementó la cantidad de animales destinados a ordeño, pero esto no se vio reflejado en un aumento de la cantidad de tambos ni de la superficie ocupada. Debe tenerse en cuenta que la intensificación también conduce a generar mayor cantidad de residuos sólidos y líquidos en las salas de ordeño (Herrero and Gil, 2008; Taverna, et al., 2004). Los líquidos residuales que se generan durante la operación están conformados por el agua del lavado de instalaciones, equipos y corrales, excretas (heces y orina) recolectadas con agua de lavado, restos de leche y de alimentos, detergentes y productos químicos de limpieza (Raghunath, et al., 2016). Así se combinan para generar un efluente con alto contenido de nutrientes, sólidos, materia orgánica y microorganismos (M. S. Gutiérrez, et al., 2008). La mala gestión de los efluentes originados en estas salas es una de las principales causas de contaminación de aguas subterráneas en la cuenca lechera (Badino, et al., 2015; Brião and Tavares, 2007; Cappellini, 2011; Chandra, et al., 2018; Herrero, 2014; Taverna, et al., 2004).

La actividad láctea para el año 2021 en la Provincia de La Pampa, contaba con 23482 animales de ordeño, considerando los 123 tambos ovinos y bovinos. Estos tambos se distribuyen en tres cuencas principales, la cuenca norte, que abarca los departamentos Chapaleufú, Maracó, QuemúQuemú, Rancul y Realicó; la cuenca centro constituida por la Capital, Catriló, Loventué y Toay y la cuenca sur, por Atreucó, Guatraché, Hucal y Utracán. La cuenca de más relevancia es esta última que consta de 14850 vacas de ordeño y 83 tambos del total general (Ministerio de la Producción de La Pampa, 2023).

Estudios actuales realizados en la cuenca Sur (PI 46 RN-FCEyN-UNLPam, Res. C.D. 98/19) indican que un tambo promedio posee 113 vacas, y produce aproximadamente 77000 litros de leche al mes. En promedio utilizan 3500 litros de agua al día, empleando la mayor parte para el lavado de pisos y la menor para el enfriamiento de la leche y lavado de pezones y equipos. Esto resulta en un gasto aproximado de 1,4 litros de agua por cada litro de leche producida. Los efluentes generados por esta actividad son derivados a canales o pozos excavados en la tierra (Pilati, et al., 2022), e ingresan al suelo sin tratamiento previo de ningún tipo. La legislación existente para los efluentes de tambos es escasa en la provincia de La Pampa, se enmarca en las leyes provinciales 1424/92, 1508/93, 2581/10 y 3195/19.

Estas normas prohíben la descarga de efluentes que no cumplan con los parámetros fijados por la autoridad de aplicación, al agua y/o suelo, aun así, no bastan para regular la actividad. Sumado a esto la gran variedad de sustancias nocivas en su constitución, hacen que sea necesario un enfoque integral, que considere la interacción entre sus componentes, incluyendo también la de aquellos que se encuentran en concentraciones tan bajas que no pueden ser detectados, y sus consecuencias sobre la biota. La estimación de los efectos tóxicos sobre los organismos se puede realizar mediante bioensayos (Day, et al., 1988). La variedad de componentes que en ellos convergen los convierten en mezclas complejas con potencial tóxico (Herrero, 2014; Mishra, et al., 2000; Poggio Herrero, 2020; Roche, 1998; Rodriguez, 2018; Sivrioğlu and Yonar, 2015).

Conocer la toxicidad de los efluentes de tambo resulta de importancia para caracterizar su efecto sobre la biota y a su vez permite evaluar la disposición final y/o posibles usos que pueden darse a esas aguas residuales, entre éstos su reúso como agua de riego. Con el reúso de los efluentes de tambos, no sólo se reduce el volumen de efluente desechado, también, se contribuye al desarrollo sustentable (Diez 2009, 2010 y 2016), y sería de suma utilidad en un área donde el agua es un recurso escaso para la producción en general, como lo es en La Pampa.

1.1. Hipótesis y Objetivos

Los tambos del sureste de la provincia de La Pampa generan efluentes tóxicos para la biota.

La toxicidad de los efluentes no puede ser predicha por sus características fisicoquímicas, pero sí por otras características propias al funcionamiento de los tambos, que hacen a la complejidad de estos efluentes.

Objetivo General

Evaluar la toxicidad aguda de efluentes producidos en tambos, del SE de la provincia de La Pampa, por medio de bioensayos con *Daphnia magna*.

Objetivo Particular

- I. Determinar los efectos de los efluentes de tambo del SE pampeano sobre la *Daphnia magna*.

- II. Identificar la relación de la toxicidad con las variables que caracterizan a los establecimientos y a los efluentes.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

La actividad primaria láctea se localiza principalmente en las provincias de Santa Fe (31,3%), Córdoba (32,3%), Buenos Aires (27,9%), Entre Ríos (4,9%), Santiago del Estero (1,3%) y La Pampa (1,2%) (Ministerio de producción, 2023) (Fig. 1).



Fig. 1: Densidad de vacas y tambos combinada, zonas con tendencia al color morado: alta densidad de tambos y vacas, rojo: alta densidad de vacas y baja de tambos, azul: alta densidad de tambos y baja de vacas y, finalmente, blanco: baja densidad de ambas variables (Extraído de SENASA, 2021).

La producción lechera de La Pampa se encuentra ubicada en la región con mejores condiciones agroecológicas provinciales, anclada en la región sub-húmeda seca. Según la Dirección de Ganadería, esta cuenca produce en promedio 9.306.952 litros de leche al mes, es decir, aproximadamente 80 millones de L/año. La cuenca principal en la provincia se denomina a nivel nacional como cuenca “La Pampa”. Esta se divide en las tres subcuencas,

entre las cuales la Cuenca Sur es la de mayor relevancia, con el 67% de tambos y el 63% del stock de vacas del total general para la cuenca. Se destacan los departamentos de Guatraché (con 48 tambos y 8426 vacas) y Atrucó (con 30 tambos y 5216 vacas) (Ministerio de producción, 2023). Como estos departamentos son los más importantes, este estudio se basó en analizar las muestras extraídas de tambos de distintos lugares de los mismos (Fig. 2).

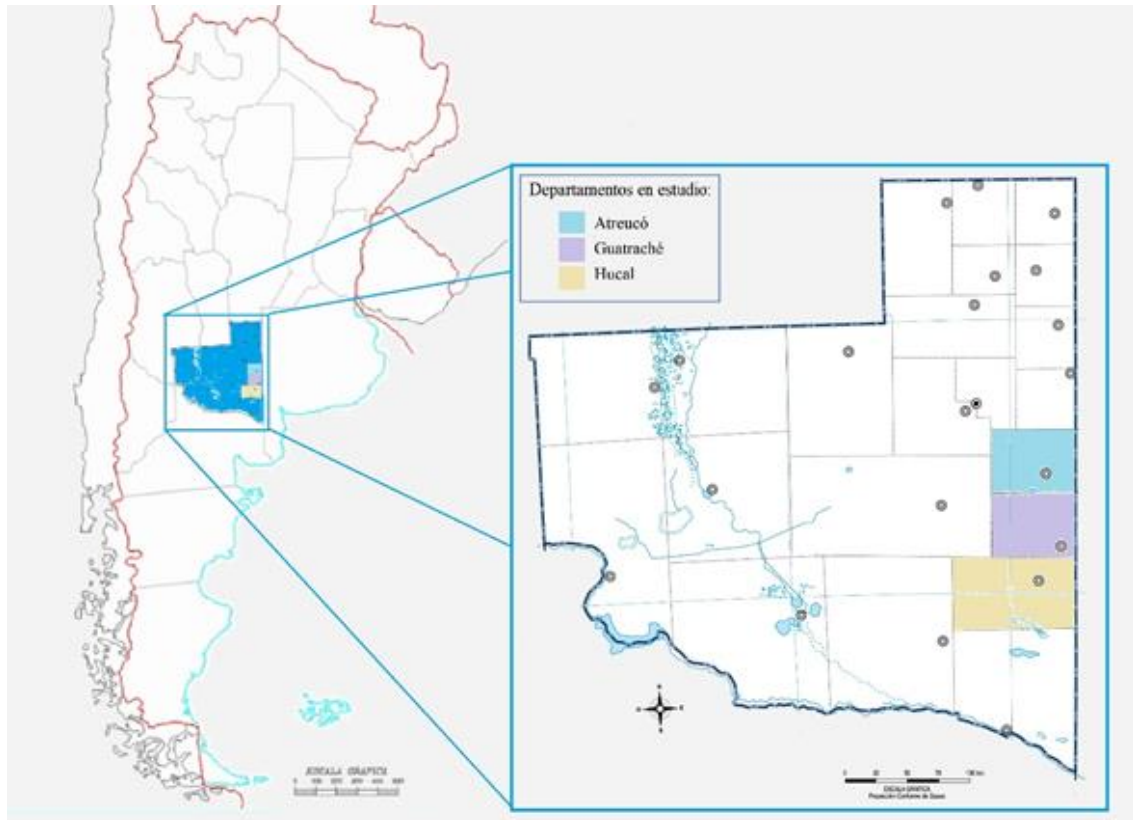


Fig. 2: Ubicación de los tres departamentos donde se localizan los tambos estudiados, en la provincia de La Pampa, Argentina.

El estudio y pruebas de laboratorio se realizaron en el Pabellón Sur y Laboratorio de Ecología y Biotecnología, Campo de Enseñanza Ruta 35, dependiente del Departamento de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNLPam.

2.2. Toma de muestras y conservación

Las muestras de los efluentes fueron colectadas en diciembre del 2021. Se tomaron 3 muestras provenientes del canal/caño de salida de los efluentes en cada uno de los 9 tambos, que por razones de privacidad se mencionaron con letras. Las muestras fueron combinadas y almacenadas en envases plásticos y mantenidas a -4° C hasta su procesamiento en laboratorio. Los análisis químicos se realizaron en muestras brutas siguiendo metodología propuesta por APHA (2012).

2.3. Organismo de referencia

Para los ensayos de toxicidad se utilizaron hembras de *D. magna* (Clase Crustácea, Orden Cladóceras). Esta especie es utilizada ampliamente en pruebas de toxicidad ya que es fácilmente cultivable, posee reproducción partenogenética (asegura una uniformidad de respuesta), y un corto ciclo de vida con un alto número de crías. Todas estas características la convierten en una muy buena especie modelo, de la cual también se conocen numerosas respuestas a muchos tóxicos. Específicamente, los ensayos de toxicidad con *D. magna* permiten determinar la toxicidad de sustancias químicas puras, aguas residuales, lixiviados, aguas superficiales o subterráneas, agua potable y de poro de sedimentos, entre otros (Castillo Morales, et al., 2004).

Las hembras de *D. magna* han sido cultivadas en el laboratorio de bioensayos actualmente ubicado en el Pabellón Sur, FCEyN, del Campo de Enseñanza de la UNLPam y la técnica está puesta a punto para su empleo en muestras ambientales (Poggio Herrero, et al., 2013).

2.3.1. Morfología y fisiología

Los dafnidos son crustáceos fitófagos filtradores muy pequeños, miden entre 0.2 y 18 mm, forman parte del zooplancton y se alimentan de fitoplancton. Posteriormente el cuerpo se extiende en una espina caudal y se evidencian dos pares de apéndices anteniformes: las anténulas, más reducidas en los adultos y con función sensorial en los juveniles, y las antenas con función trófica y locomotora en los juveniles y únicamente locomotora en los adultos, que proporcionan un nado a través de “saltos espasmódicos”, de ahí se los conoce bajo el nombre de “pulgas de agua” (Lochhead, 1961). La visión de los individuos de este género reside en un único ojo compuesto de color oscuro localizado en la región antero-medial del céfalon, siendo el resultado de la fusión de dos ojos de color rosado al principio del segundo estadio del desarrollo embrionario (Sobral, et al., 2001).

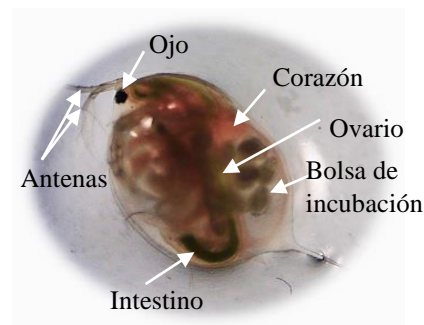


Fig. 3: Morfología *Daphnia magna*.

2.3. Cultivo y mantenimiento de los organismos de referencia

Los cultivos de *D. magna* se mantuvieron en recipientes de tres litros de capacidad (Fig. 4), con agua reconstituida de una dureza entre 160 y 180 mg CaCO₃/L. El medio se preparó según la formulación y especificaciones propuestas por Castillo Morales, *et al.* (2004).



Fig. 4: Vasos de precipitado donde se separan las madres el día anterior al ensayo y peceras de cultivo de *Daphnia magna* con aireadores.

Los cultivos se mantuvieron a una temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, con un fotoperiodo aproximado de 16 h luz/8 h oscuridad. Se las alimentó con una suspensión de algas *Scenedesmus sp.* y, para el mantenimiento, limpieza y control de calidad de cultivos, se siguieron todas las condiciones recomendadas por Castillos Morales, *et al.* (2004).

2.4. Procedimiento de prueba

Para el desarrollo de pruebas de toxicidad aguda con *D. magna* se trabajó con neonatos (< 24 h de nacidos). Los neonatos fueron expuestos a diferentes diluciones de los efluentes y a las 48 h se cuantificó el número de organismos muertos. La dilución de los efluentes se realizó en forma seriada con medio de cultivo como medio de dilución, así se testaron los efluentes puros (100%) y diluidos (50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%). Cuando fue necesario se repitió el ensayo sobre otras diluciones. Como es difícil verificar con certeza la muerte de los individuos expuestos, por su pequeño tamaño, se consideró como parámetro de medición final la inmovilidad de éstos, ya que normalmente se encuentran en constante movimiento.

Con estos resultados se estableció la proporción de mortalidad producida en cada concentración, para luego estimar la CL_{50} (Castillo Morales, et al., 2004) (Fig. 5).

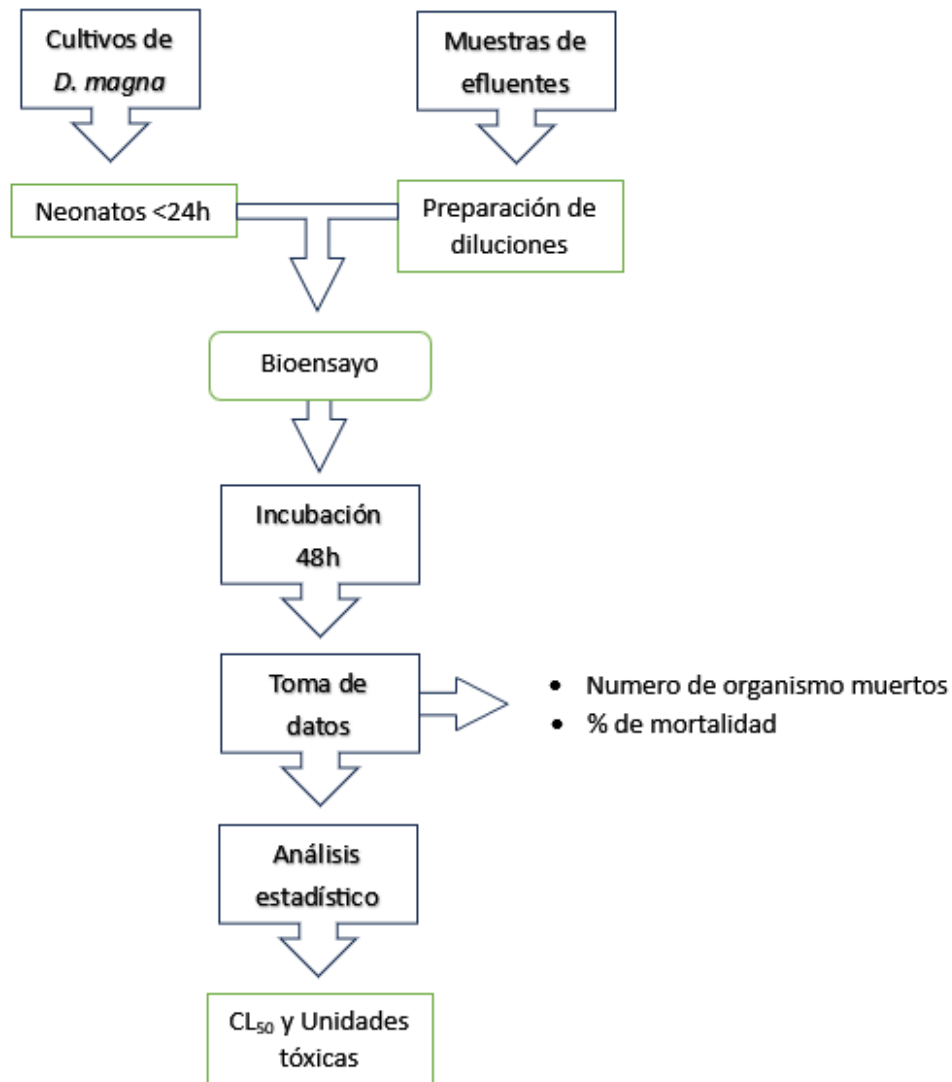


Fig. 5: Diagrama de flujo de las actividades vinculadas al desarrollo del bioensayo de toxicidad con *Daphnia magna*.

2.5. Expresión de los resultados

2.5.1. Cálculo de la CL_{50}

Se estimó la Concentración Letal 50 (CL_{50}) que es la concentración que causa la muerte al 50 por ciento de los organismos expuestos mediante el método Probit. Se ajustaron los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancias mediante el método Probit. El porcentaje de organismos muertos por la acción tóxica de la sustancia se transformó en unidades Probit y al mismo tiempo se hizo una transformación logarítmica de las concentraciones de ensayo.

Esta transformación permitió el ajuste a una recta de regresión, en la cual la concentración perteneciente al Probit 0,5, corresponde a la cantidad de efluente capaz de generar la muerte en la mitad de la población (USEPA; 1999, Díaz Báez, et al., 2004).

La aceptabilidad de los resultados depende de que la mortalidad en el control negativo (blanco realizado con el medio de cultivo) no supere el 10%. Caso contrario se invalida la prueba y se debe repetir el ensayo (Castillo Morales, et al., 2004).

2.5.2. Cálculo de UT

La toxicidad es inversamente proporcional a la CL_{50} , así, las muestras más tóxicas se corresponden a los valores de CL_{50} más bajos. Para facilitar la interpretación de los resultados se empleó una transformación a Unidades Tóxicas (UT), mediante la siguiente fórmula:

$$UT = \frac{100}{CL_{50}}$$

2.6. Caracterización de los tambos y sus efluentes

Se emplearon datos de la caracterización de los tambos (número de animales, litros de leche y consumo de agua) y de la caracterización fisicoquímica de los efluentes (DQO, SST, P- PO_4 , PT, N- NO_3 , N- NH_4 , NT) obtenidos del PI 46 RN-FCEyN-UNLPam (Res. C.D. 98/19), en el cual se enmarca esta tesina y los cuales se corresponden a las mismas muestras testeadas en este trabajo.

2.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa Past (Hammer et al. 2001). Todas las variables fueron normalizadas utilizando el logaritmo para asegurar normalidad. Se realizó un análisis multivariado de componentes principales (PCA) para precisar las variaciones que experimentaron los parámetros fisicoquímicos en los distintos tambos muestreados. En el PCA se incluyeron todas las variables químicas excepto el pH que no tuvo un Eigen-value influyente para ninguno de los dos primeros componentes. Tampoco se consideró la DBO ya que fue estimada a partir de la DQO.

A su vez se realizaron estudios de correlación entre los distintos parámetros determinados, utilizando el coeficiente de correlación de Pearson.

3. RESULTADOS

En la Fig. 6 puede observarse cómo varió el porcentaje de muertes de la especie en relación con el porcentaje de concentraciones ensayado.

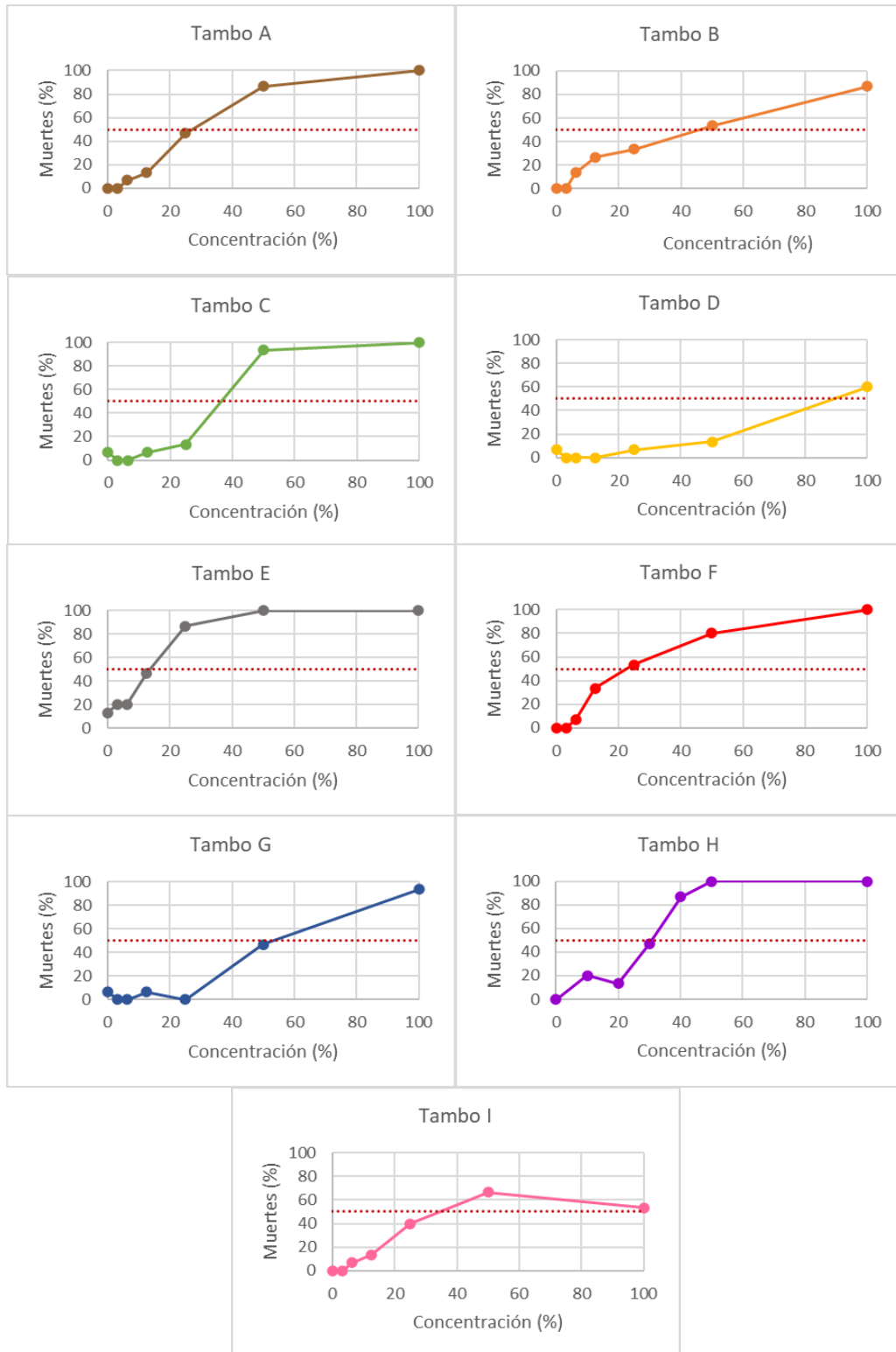


Fig. 6: Gráficas de cada tambo analizado con la relación entre porcentaje de muertes (Probit) y concentración (Log), la línea punteada marca el 50% de mortandad para cada tambo.

La tabla 4 muestra los datos relevantes que fueron tomados de las encuestas realizadas a los tambo y los parámetros fisicoquímicos analizados para cada tambo. En la tabla 5, se puede observar la clasificación de la toxicidad de los efluentes de cada tambo, según Saldaña (2002), la muestra del tambo D, se corresponde a la de menor toxicidad, y la del tambo E, a la de mayor toxicidad. El total de los tambos organizados de menor a mayor toxicidad puede observarse en la Fig. 7.

Tabla 4: Datos encuestados y parámetros fisicoquímicos que fueron analizados para cada tambo.

Tambo	# vacas	L leche/día	L agua/día	SST (g/L)	P-PO4/L (mg)	N-NO3/L (mg)	N-N H4/L (mg)	NT/L (mg)	PT/L (mg)	dqo (mgO2/L)
A	102	2000	3300	1112,1	15,3	0,0	140,3	204,4	53,5	526,4
B	66	1800	5600	268,5	4,2	3,0	12,1	48,4	13,9	179,0
C	95	2200	3380	1770,0	6,4	0,1	7,0	72,4	32,7	438,7
D	42	1200	7840	366,7	8,7	0,0	29,5	75,6	26,0	349,6
E	90	2100	2620	558,1	10,6	0,0	18,4	100,4	37,9	359,3
F	180	5000	6200	725,0	4,8	0,4	18,9	98,6	28,6	452,1
G	120	3000	10000	291,8	12,7	0,0	26,1	92,4	33,9	670,7
H	90	2000	2700	1267,6	4,1	0,1	143,6	221,2	57,2	982,6
I	115	2800	2740	1105,8	1,8	0,3	9,8	84,0	23,5	427,5

Tabla 5: Clasificación de la toxicidad según Saldaña (2002), para cada tambo examinado.

Tambo	Muestra	UT	Clasificación según toxicidad
A	4	4,2	Muy tóxico
B	5	3,1	Tóxico
C	6	3,4	Tóxico
D	7	1,1	Ligeramente tóxico
E	8	9,6	Muy tóxico
F	18	4,3	Muy tóxico
G	19	2,5	Tóxico
H	22	3,8	Tóxico
I	26	1,9	Moderadamente tóxico

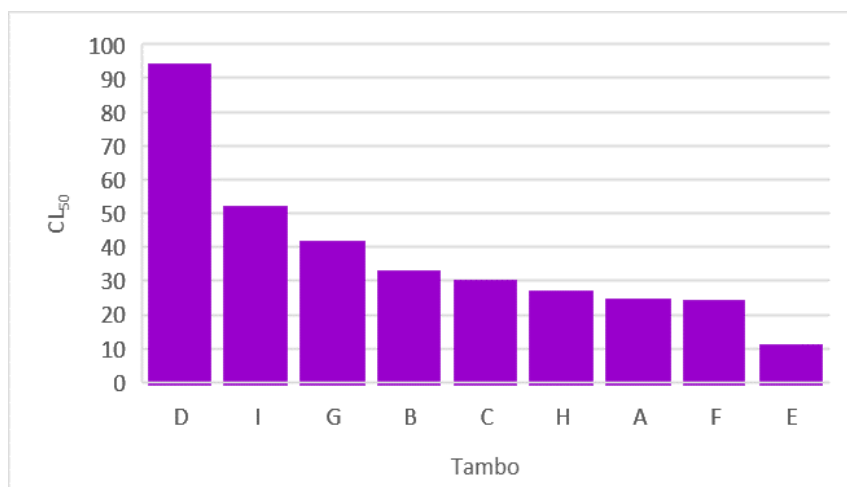


Fig. 7: CL₅₀ para cada tambo analizado, en orden de toxicidad ascendente.

El análisis de correlación entre todos los datos encuestados y parámetros fisicoquímicos con las UT dio valores muy bajos, indicando la nula significancia entre variables (tabla 6).

Tabla 6: Coeficiente de correlación entre UT y cada una de las variables analizadas independientemente.

Correlación de variables	
UT - # vacas	0,150
UT - L eche/día	0,077
UT - L agua/día	-0,464
UT - SST (g/L)	-0,002
UT - P-PO4/L (mg)	0,256
UT - N-NO3/L (mg)	-0,125
UT - N-N H4/L (mg)	0,039
UT - NT/L (mg)	0,172
UT - PT/L (mg)	0,309
UT - dco (mgO2/L)	-0,059

El PCA indicó que los dos primeros componentes explicaron el 93,1% de la varianza total de las observaciones. El CP1 estuvo positiva y fuertemente relacionado con los niveles de NO₃ mientras que el CP2 se relacionó principalmente de manera positiva con los niveles de Sólidos Suspendidos, amonio, nitrógeno total, fósforo total, Conductividad, DQO, UT y fosfatos, y de manera negativa con el uso de agua en los tambos. Este análisis multivariado permitió separar los tambos en tres grupos: 1) tambos D, E y G. 2) tambos A y H. 3) tambos B, C, F y I. El primer grupo estuvo caracterizado por los bajos niveles de nitratos. El segundo por tener elevada UT, amonio, nitrógeno total, sólidos suspendidos, DQO y conductividad debido al poco volumen de agua utilizado. El tercer grupo estuvo caracterizado por los altos niveles de nitratos (Fig. 8).

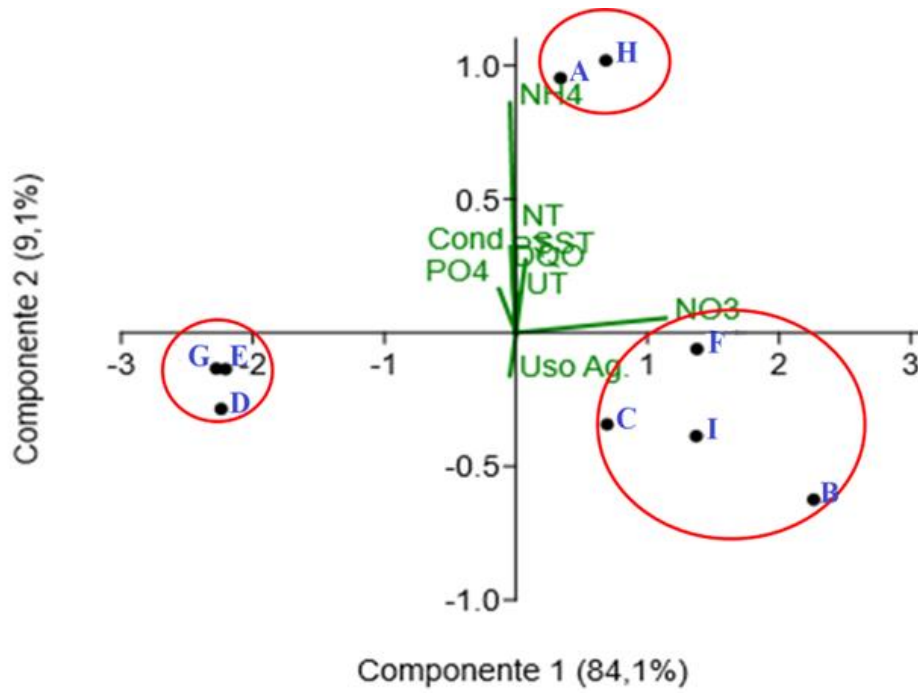


Fig. 8: Agrupación de tambos según el Análisis de Componentes Principales considerando: sólidos suspendidos totales (SST), amonio (NH_4), nitrógeno total (NT), fósforo total (PT), Conductividad (Cond.), demanda química de oxígeno (DQO), Unidades tóxicas (UT), fosfatos (PO_4) y uso de agua en los tambos (Uso Ag.). Cada componente principal muestra, entre paréntesis, el porcentaje de la varianza explicada por cada eje.

4. DISCUSIÓN

La mortalidad fue elevada en todas las muestras de tambos, aún en bajas concentraciones de los efluentes, excepto para la muestra del tambo D, en la cual puede observarse una baja mortandad aún en altas concentraciones (Fig. 6).

Como se evidenció en la Fig. 7, las CL_{50} para el 78% de las muestras se encontró entre los valores de 23-51%, por tanto, entre 2-4 UT, indicando alta toxicidad, las muestras que difirieron de estos valores son las del tambo D, con una $CL_{50}=93,32\%$ y $UT=1,07$ lo cual indicó que esta muestra presenta una considerablemente baja toxicidad, por otro lado, la del tambo E obtuvo una $CL_{50}=10,47\%$ y $UT=9,55$ haciendo de esta la mezcla más tóxica de todas (Tabla 5). De acuerdo con la escala de toxicidad aplicada por Saldaña (2002), donde $UT < 1,33$ ($CL_{50} > 75$) = Ligeramente tóxico, UT entre 1,33–1,99 (CL_{50} 75-50) = Moderadamente tóxico, UT 2–4 (CL_{50} 50-25) = Tóxico y $UT > 4$ ($CL_{50} < 25$) = Muy tóxico, los efluentes testeados fueron en su totalidad tóxicos para *D. magna*, el 33,33 % se clasificó como muy tóxicos, el 44,4% como tóxico, mientras que el 22,2% restante fue ligera o moderadamente tóxico (Saldaña, 2022).

Los resultados obtenidos para los 9 tambos muestreados se encuentran dentro del rango encontrado por Poggio Herrero (2020), donde la muestra más tóxica correspondió al 43% y la muestra menos tóxica al 89%. Aunque en esta tesina se identifican tambos que presentaron toxicidades mayores a las reportadas en el mencionado estudio, todas las muestras se clasifican como tóxicas para la especie ensayada ($UT= 11-100$).

Las UT no estuvieron significativamente correlacionadas con ninguna de las variables analizadas (tabla 6), sin embargo, hay tambos que son altamente tóxicos, esto podría deberse a efectos sinérgicos o a otras variables que no fueron medidas, como el uso de detergentes ácidos, alcalinos, de antibióticos, etc. Como las UT no se correlacionaron con ninguna variable en particular, por tanto, es de esperar que la UT no agrupe muchos tambos en el ACP.

Respecto a los parámetros fisicoquímicos, se encontró que la toxicidad, estudiada bajo los efectos provocados en *D. magna*, no tiene relación con el contenido de sólidos en suspensión, ni la DQO. Pero sí se los puede ubicar, en su gran mayoría, por fuera de los límites establecidos por la reglamentación provincial, Decreto N° 2793/06 (350 mg O_2/L para la DQO y SS 0-1ml/L), por tanto, no serían aptos para su vertido directo.

Los niveles de DQO medidos son inferiores a los reportados para efluentes del tambo de la EEA-INTA – Rafaela, donde se determinación valores de DQO de 4617 ± 370 mg/L para el ELT sin tratamiento (García, et al., 2006). Para tambos ubicados en cuencas lecheras de Bs. As. Herrero (2014) indica niveles de DQO entre 530 y 27000 mg/L para efluente crudo. Considerando los reportes anteriores, los resultados de los tambos muestreados presentaron DQO relativamente bajas teniendo en cuenta la carencia de tratamiento. Estos resultados coinciden con los obtenidos en trabajos realizados en tambos argentinos por Herrero (2014), Poggio Herrero (2020) y García et al. (2006) en los cuales, los efluentes no alcanzan los niveles requeridos de DQO para descarga al ambiente. Sin embargo, estudios en Nueva Zelanda muestran que es posible reducir la carga orgánica de los efluentes de tambo con un tratamiento adecuado por medio de extracción de sólidos seguida de un sistema de lagunas: anaeróbica y facultativa (Craggs, et al., 2004).

5. CONCLUSIÓN

La elevada toxicidad de las muestras analizadas indica la necesidad de implementar un tratamiento adecuado, previo a su disposición final.

Dado que los tambos estudiados presentaron efluentes con DQO muy elevados se considera que incluir tratamientos de filtración y/o aireación podría lograr disminuir la cantidad de materia orgánica y sólidos en el residuo líquido. Sería relevante conocer el cambio que estos tratamientos podrían generar en la toxicidad del efluente.

Teniendo en cuenta la situación hídrica de la provincia de La Pampa, realizar el tratamiento adecuado en los efluentes permitiría emplearlos, con bajo riesgo, como agua de riego con alto aporte de nutrientes.

Se sugiere realizar más estudios para poder determinar que fracciones químicas del efluente o componentes son los que más aportan a la toxicidad global indicada por *D. magna* y que toxicidad presenta ante otros organismos de prueba.

6. REFERENCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Pollution Control Federation (WPCF), 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22 nd edition. Washington DC.
- Badino, O., Schmidt, E., Ramos, E., Herrero, M.A., Weidmann, R., Giraudo, F., 2015. Uso del agua, manejo de efluentes y residuos en tambos del noreste de la provincia de Santa Fé (Argentina). *Rev. FAVE - Ciencias Agrar.* 14, 7–16.
- Brião, V.B., Tavares, C.R.G., 2007. Effluent generation by the dairy industry: Preventive attitudes and opportunities. *Brazilian J. Chem. Eng.* 24, 487–497. doi:10.1590/S0104-66322007000400003.
- Cappellini, O.R., 2011. Dairy development in Argentina, Fao.
- Castillo Morales, G., Ed. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México, Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo - Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Chandra, R., Castillo-Zacarias, C., Delgado, P., Parra-Saldívar, R., 2018. A biorefinery approach for dairy wastewater treatment and product recovery towards establishing a biorefinery complexity index. *J. Clean. Prod.* 183, 1184–1196. doi:10.1016/j.jclepro.2018.02.124.
- Charlon, V. 2007. Residuos en las Instalaciones de Ordeño. *Revista Idia XXI* N° 9. 1-192.
- Craggs, R.J., Sukias, J.P., Tanner, C.T., Davies-Colley, R.J., 2004. Advanced pond system for dairy-farm effluent treatment. *New Zeal. J. Agric. Res.* 47, 449–460. doi:10.1080/00288233.2004.9513613.
- Day, K.E., Ongley, E.D., Scroggins, R.P., Eisenhauer, R.P., 1988. Biology in the New Regulatory Framework for Aquatic Protection, Proceedings for the Alliston Workshop, National Water Research Institute (Burlington, Ontario) and Environment Canada (Ottawa).

- Diez, M. (2009). Respuesta del maíz a la aplicación de efluentes de tambos en entisoles y molisoles de la planicie medanosa. Disponible en: <https://repo.unlpam.edu.ar/handle/unlpam/2275>
- Diez, M. (2010). Manejo de los efluentes originados en tambo: Una experiencia en el este de La Pampa. *Informaciones Agronómicas del Cono Sur (IPNI)*, (47), 16-18.
- Diez, M. (2016). Alternativas de uso de efluentes de tambo: efectos sobre la producción de cultivos y propiedades de molisoles y entisoles de la Región Semiárida Pampeana (Doctoral dissertation, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa). Disponible en: <https://repositorio.inta.gov.ar/xmlui/handle/20.500.12123/5955>
- Dirección General de Estadísticas y Censos, La Pampa (DGEyCLP). 2023. Anuario estadístico 2022-2023, Edición especial. Gobierno de la provincia de La Pampa. https://estadistica.lapampa.gov.ar/images/Archivos/AnuarioEstadistico/ANUARIO_2022-2023_-__.pdf visitado el 5 febrero de 2024.
- EPA. 1992. EPA/600/6-91/005F. USEPA. Toxicity Identification Evaluation: Characterization of Chronically Toxic Effluents, Phase I.
- FAO. 2018. Water use of livestock production systems and supply chains – Guidelines for assessment. *Livestock Environmental Assessment and Performance (LEAP) Partnership*. FAO, Rome, Italy. 106 p.
- Fyfe, J., D. Hagare y M. Sivakumar. 2016. Dairy shed effluent treatment and recycling: Effluent characteristics and performance. *Journal of Environmental Management* 180: 133-146
- García, K.E. 2015. Manejo de efluentes en instalaciones tamberas. *Tecnología Láctea Latinoamericana* 88:56-60.
- García, K.E., Charlón, V., Cuatrín, A., Taverna, M., Walter, E., 2006. Evaluación de un sistema de tratamiento de efluentes generados en las instalaciones de ordeño. *Comunicación. Rev. Argentina Prod. Anim.* 28, 313–314.
- Hammer, Ø., D. A. T. Harper and P. D. Ryan. 2001. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 1-9.

- Hawke, R.M. y S.A. Summers (2006) Effects of land application of farm dairy effluent on soil properties: A literature review, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 49(3):307-320.
- Herrero, M.A., Gil, S.B., 2008. Consideraciones ambientales de la intensificación en producción animal. *Sección Espec. Ecol. Austral* Diciembre 18, 273–289. doi:<http://www.scielo.org.ar/pdf/ecoaus/v18n3/v18n3a03.pdf>.
- Herrero, M.A., 2014. Uso y manejo del agua y efluentes en un área rural: Consecuencias sanitarias y ambientales de la intensificación de la producción primaria de leche. UBA.
- Kuppusamy, S., D. Kakarla, K. Venkateswarlu, M. Megharaj, Y. Yoon, Y. Lee. 2018. Veterinary antibiotics (VAs) contamination as a global agro-ecological issue: A critical view. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 257: 47–59.
- Lochhead, J.H. (1961). “Locomotion”. En: *The Physiology of Crustacea*. Vol. II. Sense organs, integration, and behaviour. T.H. Waterman, ed. Academic Press Inc. (London) Ltd., 681 pp.
- Lui, J. (2017). Tabla probits, apuntes de farmacia. Asignatura de tecnobiología, Universidad de Santiago de Compostela (USC). <https://www.doccity.com/es/tabla-probits/3467156/> visitado el 1 de enero de 2024.
- McKee, D. & Ebert, D. 1996. The Interactive effects of temperature, food level and maternal phenotype on offspring size in *Daphnia magna*. *Oecologia* 107:189-196.
- Ministerio de Producción, Gobierno de La Pampa. 2023. Informe Cadena Láctea. https://produccion.lapampa.gob.ar/images/Archivos/Servicios/cadena_lactea_pampeana/Informe_Cadena_Lactea_Feb.2023.pdf visitado el 22 de enero de 2024.
- Mishra, S., Barik, S.K., Ayyappan, S., Mohapatra, B.C., 2000. Fish bioassays for evaluation of raw and bioremediated dairy effluent. *Bioresour. Technol.* 72, 213–218. doi:10.1016/S0960-8524(99)00124-8.
- National Resource Conservation Service Wisconsin (NRCSW). 2009. Milking Center Wastewater Guidelines. A Companion Document to Wisconsin NRCS Standard 629. https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/wi/home/?cid=nrcs142p2_020924

- visitado el 10 Sept 2018.OECD.2004. *Daphnia sp.*, acute immobilization test 202. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals (Section 2: Effects on Biotic Systems).
- Pandard P, Devillers J, Charissou AM, Poulsen V, Jourdain MJ, Férard JF, Grand C, Bispo A. 2006. Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. *Science of the Total Environment* 363,114-125.
- Pilati, A; Fanelli, S; Rodríguez, C; Poggio Herrero, V; Casado, R; 2022. Tambos del SE de La Pampa: Caracterización de Establecimientos y de desechos líquidos. 13° Jornadas Pampeanas de Ciencias Naturales y Ambientales, 21 al 23 de septiembre de 2022, Santa Rosa, La Pampa.
- Poggio Herrero, IV. 2020. Estudios ecotoxicológicos para la gestión sustentable de efluentes líquidos urbanos y pecuarios. Tesis Doctoral. FCE. UNLP.
- Poggio Herrero I.V.; Ortíz, D.; Mariame, M.; Fanelli, S.L.; Mastrantonio, G. 2013. Puesta a punto y calibración de bioensayos de toxicidad aguda para la evaluación de muestras ambientales. Jornadas Pampeanas de Ciencias Naturales. COPROCNA.
- Raghuath, B. V, Punnagaiarasi, A., Rajarajan, G., Irshad, A., Elango, A., Mahesh, G., 2016. Integrated Waste Management in India. doi:10.1007/978-3-319-27228-3.
- Rodriguez C, 2018. Uso de bioensayos para la evaluación toxicológica de efluentes provenientes de la producción láctea en la provincia de La Pampa. Trabajo final de Tesina. Ed UNLPam.
- Roche, K.F., 1998. Growth potential of *Daphnia magna* Straus in the water of dairy waste stabilization ponds. *Water Res.* 32, 1325–1328. doi:10.1016/S0043-1354(97)00272-8.
- Romero, P. R. y A. M. Cantú. 2008. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. México, Instituto Nacional de Ecología, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).
- Saldaña, P., Lerdo, T. A., Gómez, M. A. Y López, R. 2002. La importancia de incluir análisis de toxicidad en descargas industriales y municipales que afectan a los cuerpos receptores. Instituto Mexicano de Tecnología Del Agua, 1–11.

- SENASA. 2018. Cuadro de estratificación de tambos en Argentina. Disponible en: http://www.senasa.gob.ar/prensa/DNSA/Control_Gestion_y_Programas_Especiales/Indicadores_ganaderos/7_Indicadores_Ganaderia_Bovina_%20de_Tambo/Tambos.html Visitado el 13 marzo 2023.
- SENASA. 2021. Caracterización de Tambos Bovinos. Coordinación General de Sistemas de Gestión Sanitaria, Dirección de Ejecución Sanitaria y Control de Gestión (DNSA). https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/87-caracterizacion_tambos_bovinos_diciembre_2021.pdf Visitado el 22 enero de 2024.
- Silva, J; Torrejon, G.; Bay- Schmith E; Larrain, A. (2003) Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (crustacea: cladócer) usando un tóxico de referencia. *Gayana* 67 (1): 87-96. ISSN 0717-652X.
- Sivrioğlu, Ö., Yonar, T., 2015. Determination of the acute toxicities of physicochemical pretreatment and advanced oxidation processes applied to dairy effluents on activated sludge. *J. Dairy Sci.* 98, 2337–2344. doi:10.3168/jds.2014-8278.
- Sobral, O.; Chastinet, C.; Nogueira, A.; Soares, A.M.V.M.; Gonçalves, F.; Ribeiro, R. (2001). “In vitro development of partenogenetic eggs: a fast ecotoxicity test with *Daphnia magna*?”. *Ecotox. Environ. Safety* 50: 174-179.
- Taverna M., Charlon V., Panigatti C., Castillo A., Serrano P., Giordano J. 2004. Manejo de los residuos originados en las instalaciones de ordeño. Una contribución al logro de ambientes locales sanos. INTA Rafaela, Argentina, 1-75.
- Taverna, M.A., C. García, y M.B. Adorni. 2014. Procedimiento de muestreo de efluentes líquidos y residuos sólidos orgánicos generados en el tambo. 1° Ed. Rafaela, Santa Fe: Ediciones INTA 2014. E-Book ISBN 978-987-521-514-6. Disponible en: <https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/handle/20.500.12123/2083> Visitado el 2 abril 2023.