

## Evaluación estacional de las aguas del río Tunuyán (Mendoza) mediante ICA y el empleo de *C.elegans* como indicador biológico

Clavijo Araceli<sup>1-2</sup>, Calvo Daniel<sup>3</sup>, Rossen Ariana<sup>4</sup>, Salatino Santa E.<sup>5</sup>, Morábito José<sup>5-6</sup>, Kronberg Florencia<sup>1-2</sup>, Moya Aldana<sup>7</sup> y Munarriz Eliana<sup>1-2</sup>

1 - Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales, CONICET-Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453 C1417DSE, CABA, Argentina.

2 - Cátedra de Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453 C1417DSE, CABA, Argentina.

3 - Servicios Hidrológicos. Instituto Nacional del Agua, Av. Ezeiza-Cañuelas, tramo Jorge Newbery Km 1,620 Pcia. Buenos Aires.

4 - Laboratorio Experimental de Tecnologías Sustentables. Instituto Nacional del Agua, Av. Ezeiza-Cañuelas, tramo Jorge Newbery Km 1,620 Pcia. Buenos Aires, Argentina.

5 - Centro Regional Andino. Instituto Nacional del Agua, Belgrano 210 (M5500FIF) Mendoza, Argentina.

6 - Facultad de Ciencias Agrarias (UN Cuyo) Alte. Brown 500, Chacras de Coria, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina.

7 - Cátedra de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453 C1417DSE, CABA, Argentina.

[a.clavijo@agro.uba.ar](mailto:a.clavijo@agro.uba.ar)

### RESUMEN

Para una mejor y más eficaz toma de decisión por parte de las autoridades para el desarrollo de planes de gestión de recursos naturales, cada vez más las agencias de protección ambiental recomiendan incluir bioensayos de toxicidad para complementar el análisis de la calidad de las muestras. La cuenca del río Tunuyán (Mendoza, Argentina) atraviesa una de las zonas más productivas de la provincia. Sin embargo, las actividades antrópicas de sus oasis de regadío son las responsables de la contaminación y deterioro de la calidad del recurso. En este trabajo se realizó una comparación estacional (primavera-verano y otoño-invierno) de la calidad de agua superficial con fines de riego, en siete puntos seleccionados de la cuenca del río Tunuyán. Para ello, se realizaron determinaciones fisicoquímicas y bacteriológicas de acuerdo a las técnicas del *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* y con ellas se construyó el Índice de Calidad de Agua (ICA) basado en el índice canadiense (CCMEWQI). Además se empleó el bioensayo estandarizado de toxicidad con el nematodo *Caenorhabditis elegans*. Los análisis estadísticos (análisis descriptivo, comparaciones paramétricas y no paramétricas y análisis de regresión) muestran que existe una marcada diferencia estacional entre las medias de diversos parámetros de calidad del agua. Los valores del ICA fueron menores durante la estación estival, mostrando un mejoramiento en la calidad del agua para riego, coincidiendo con una disminución del crecimiento del nematodo. Se observó una débil correlación positiva entre ambas variables, indicando que la toxicidad no siempre está directamente relacionada con el deterioro de calidad descripto por los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos. A modo de conclusión, este trabajo refuerza la idea de que la calidad del agua debe ser evaluada con un enfoque integral que incluya la evaluación del impacto de estresores ambientales a fin de proporcionar alertas tempranas de potenciales riesgos. Así mismo, se valida el uso del nematodo *C. elegans* como una herramienta de evaluación de la toxicidad del medio ambiente que complementa la información proporcionada por los ICAs.

## INTRODUCCIÓN

La provincia de Mendoza se encuentra en una de las regiones más secas de la parte occidental de la Argentina, representando la mayor área de regadío integral del país, representando el 25% del total nacional. En la región predominan las condiciones de aridez, sus ríos presentan un régimen nival, constituyéndose en la única fuente de suministro de agua para las zonas habitadas a través de las corrientes superficiales y subterráneas.

Una de las cuencas más importantes de la región pertenece a la del río Tunuyán. Esta cuenca da origen a dos subcuencas: la superior (54.000 ha en los departamentos Tupungato, Tunuyán y San Carlos) y la inferior (80.000 ha en el este provincial), separadas ambas por el dique de embalse El Carrizal (360 hm<sup>3</sup>). La elección de esta cuenca como área de estudio se fundamenta en la enorme importancia económica que presenta donde la actividad agrícola (viticultura y cultivo de frutales), incluida la producción de la agroindustria, representa aproximadamente el 20% del producto bruto geográfico, el 50% de las exportaciones nacionales y el 23% de la mano de obra de la población de la provincia (Gervasi, 2001). Por lo mencionado surge que el recurso hídrico en Mendoza presenta una disponibilidad muy limitada y variable que es determinante de la productividad agrícola y por tanto del desarrollo económico de la provincia. Esta condición obliga al conocimiento y permanente control de la calidad del agua para asegurar la sostenibilidad de los modelos productivos de ambas cuencas (Morabito et al., 2011; 2012).

En la actualidad los estudios de calidad de agua se basan en la determinación de parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos, que no siempre son fáciles de interpretar por parte de las autoridades y usuarios. Para ello, los Índices de Calidad de Agua (ICA) son herramientas cuyo uso es cada vez más frecuente, ya que permiten ordenar e interpretar una gran base de datos de diferentes parámetros y asignar un valor de calidad al medio. Su combinación permite una interpretación rápida del estado ecológico, ayuda en decisiones gubernamentales y en la evaluación de programas de control, entre otros (Torres et al., 2010). A lo largo del tiempo se han propuesto diferentes ICA (Pesce y Wunderlin 2000; Sánchez et al. 2006; Kannel et al. 2007), aunque el propuesto por el Consejo Canadiense de Ministros del Medio Ambiente (CCME 2001) es uno de los más reconocidos (Sharma y Kansal, 2011). Estos índices de calidad se construyen con el uso integrado de parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos en base a los valores límites de los parámetros regulados por la normativa local.

Debido a que las muestras ambientales pueden contener tóxicos indefinidos, las agencias de protección ambiental actualmente recomiendan incluir también indicadores biológicos para complementar el análisis tradicional basado solamente en determinaciones fisicoquímicas y bacteriológicas. Para ello es indispensable incorporar otras herramientas como los **ensayos ecotoxicológicos** que aportan una visión complementaria al estudio de la calidad ambiental. Los mismos permiten analizar matrices complejas, como muestras de agua, y estudiar su efecto en diferentes respuestas biológicas.

*C. elegans* ha demostrado ser un modelo biológico adecuado para evaluar el nivel tóxico en muestras ambientales en virtud de sus múltiples ventajas (Tominaga et al., 2003; Roh et al., 2008; Clavijo et al., 2016). Una de las características más importantes que convierte a este nematodo en un excelente modelo biológico, es que la mayoría de sus procesos fisiológicos básicos y de respuesta a estrés se encuentran conservados en organismos superiores incluyendo los seres humanos (Kaletta & Hengartner, 2006; Leung et al., 2008). Comparando las respuestas tóxicas en *C. elegans* y de datos de toxicidad en mamíferos, se encontró que muchas respuestas fueron similares, lo que indica que las mediciones de la morbilidad y la mortalidad en relación con el análisis de la morfología en *C. elegans* pueden tener el potencial para predecir respuestas tóxicas en mamíferos (Hunt, et al., 2012). Por tal motivo *C. elegans* es un modelo que ha sido validado por diversas normativas internacionales como ISO (10872:2010) y la ASTM (E2172-01/2008).

Este trabajo aporta información respecto de la evaluación integrada de los efectos de las posibles fuentes de contaminación (agricultura, industria, uso doméstico) que pueda facilitar a los responsables de la

administración del recurso, la implementación de mejores políticas y planes de gestión de los recursos hídricos.

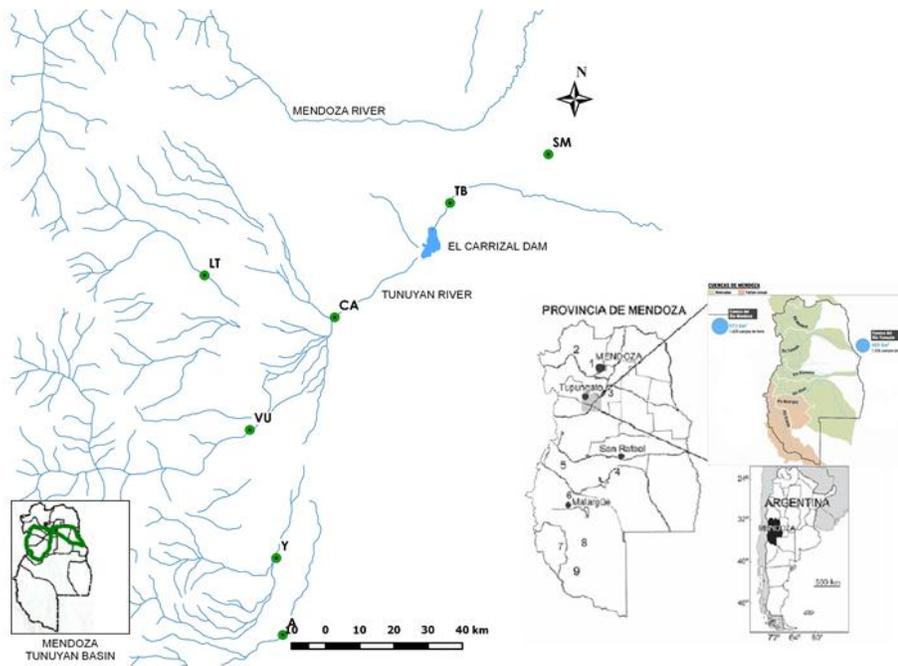
## OBJETIVO

Realizar una evaluación estacional comparativa (primavera-verano versus otoño-invierno) de la calidad de agua con fines de riego del río Tunuyán, mediante el cálculo del índice de calidad de agua canadiense (CCMEWQI) obtenido con parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos, y de su estado toxicológico mediante el empleo de bioensayos con *Caenorhabditis elegans* como modelo biológico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Sitio de estudio*

La superficie de la provincia de Mendoza es de 148.827 km<sup>2</sup> y posee la mayor área de regadío integral del país, representando el 25% del total nacional. Dentro de esta provincia se encuentra el río Tunuyán, que atraviesa una de las zonas más productivas de la región. El mismo tiene un caudal promedio de 30,6 m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>. Los puntos de monitoreo seleccionados para este estudio se localizan en las cuencas superior e inferior del río. En el río Tunuyán Superior se han establecido cinco puntos de monitoreo: Las Tunas (LT), Aguanda (A) y Yaucha (Y) cuyos cursos de agua desembocan en río Tunuyán. Además se ha incluido un punto sobre el río propiamente dicho en Valle de Uco (VU) y un quinto sitio de monitoreo justo antes del ingreso al embalse El Carrizal, llamado Costa Anzorena (CA). En la cuenca baja se han seleccionado dos puntos, uno a la salida del embalse, en Tiburcio Benegas (TB) y finalmente otro en un canal de riego ubicado en la localidad de San Martín (SM). En la Figura 1 se identifica la zona de muestreo y los puntos de monitoreo seleccionados.



**Figura 1.-** Área de estudio en la cuenca del río Tunuyán y localización de los sitios de monitoreo

Los monitoreos se realizaron mensualmente en la cuenca del río Tunuyán a partir del otoño de 2014 hasta el otoño de 2015. Se consideraron 8 meses de monitoreo con la excepción de los meses de invierno (junio y julio) por la falta de agua en el río. Así como también fueron suspendidos los de enero y febrero debido a dificultades operacionales. Las muestras fueron tomadas en la zona media del río, a 0,4 m desde la superficie del agua, en recipientes estériles. Todos los cursos de agua son poco profundos (menos de 1 m), a excepción de VU y TB, con 2 m promedio de profundidad. Cada muestra fue dividida en diferentes recipientes de acuerdo al análisis de los parámetros. Las muestras fueron almacenadas, transportadas y conservadas de acuerdo con metodología estándar (SM 1060-C) (APHA, 2012).

### *Análisis fisicoquímicos y bacteriológicos*

Los parámetros fisicoquímicos fueron evaluados de acuerdo con la normativa vigente para irrigación, la Resolución 778/96 del Departamento General de Irrigación de Mendoza, Argentina (DGI, 1996), que proporciona los límites máximos permitidos para los vertidos directos e indirectos en cursos de agua superficial con fines de riego. Se determinaron diferentes parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos en cada sitio de monitoreo de acuerdo con métodos estandarizados (APHA, 2012; ASTM, 2014). Se midieron *in situ*: Temperatura (T), oxígeno disuelto (OD), pH y conductividad eléctrica (CE) mediante el uso de una sonda multiparamétrica (Horiba modelo U -10). El sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) y el potasio ( $\text{K}^+$ ) por el método turbidimétrico y el método de fotometría de llama, respectivamente. Los iones de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), sodio ( $\text{Na}^+$ ) y magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) por complexometría EDTA y la concentración de ión bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) por valoración ácido-base. Los cloruros ( $\text{Cl}^-$ ) por el método volumétrico de Mohr. Por otra parte se calculó la relación de absorción de sodio (RAS). Los niveles de fosfato soluble ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) y de fósforo total (P) (previa digestión con persulfato amónico) mediante el método colorimétrico de ácido ascórbico del *Standard Method 4500-P-E*. Los nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) por el método de reducción de cadmio (Método Hach 8171). La demanda química de oxígeno (DQO) por el método colorimétrico. Las bacterias aerobias mesófilas (BAM) se cuantificaron de acuerdo con el método de recuento en placa (SM 9215-B), los coliformes termotolerantes totales (CTT) y coliformes totales (CT) se determinaron por la técnica de fermentación en tubos múltiples (SM 9221-B y E) (APHA 2012). Los datos de caudal del río se calcularon o fueron suministrados por el Departamento General de Irrigación de la provincia de Mendoza a través de las curvas de gasto de las estaciones de aforo próximas a los puntos de muestreo (DGI, 1996).

### *Cálculo del ICA*

El cálculo del Índice de Calidad de aguas (ICA) del Consejo Canadiense de Ministros del Medio Ambiente (Canadian Council of Ministers of the Environment, CCME) se basa en la ecuación descrita en el Informe de Indicadores de Sostenibilidad Ambiental de Canadá (Statistics Canada, 2014):

$$\text{CCME WQI} = 100 - \left( \frac{\sqrt{F_1^2 + F_2^2 + F_3^2}}{1.732} \right) \quad (1)$$

donde F1, F2 y F3 conforman un vector tridimensional de porcentajes que representan, respectivamente, la magnitud, la amplitud y la frecuencia de los parámetros que no cumplen con las regulaciones actuales locales (desarrollo de la ecuación del índice ver anexo 1) (Lavié et al, 2014). Los valores del índice van desde 0 (peor calidad) a 100 (mejor calidad) considerando las siguientes categorías: excelente, buena, media, marginales y pobres. Para desarrollar los datos del ICA correspondiente a cada sitio de monitoreo del río Tunuyán, se seleccionaron los siguientes parámetros: T, caudal, pH, CE, RAS,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , P, DQO, OD, BAM, CT y TTC sujetos a la regulación de la normativa (DGI, 1996).

### *Bioensayo con C. elegans*

El bioensayo con *C. elegans* se desarrolló con pequeñas modificaciones siguiendo la metodología descrita por Höss et al. (2013) y acorde a métodos estándar (ISO, 2010). El ciclo de vida de *C. elegans* consiste en una fase embrionaria, seguido de cuatro estadios larvales llamados L1 a L4 y una etapa adulta final. Se incubaron 10 nematodos en estadio L1 con las muestras de agua y *E. coli* como fuente de alimento ( $DO_{600nm} = 2$ ) en un volumen final de 0,5 mL. Los ensayos se realizaron por cuadruplicado en placas de cultivo de 24 pocillos y se incubaron durante 96 h a 20 °C. Transcurrido este tiempo, se detuvo el crecimiento de los nematodos por calor (20 min a 50 °C), se tiñeron por el agregado de 0,25 mL de solución de Rosa Bengala (0,5 g/L) y se almacenaron a 4 °C hasta la realización de las mediciones.

Los nematodos testeados se fotografiaron bajo el microscopio óptico con aumento de 40X. Se determinó la longitud del cuerpo de cada nematodo con ayuda del programa *ImageJ* (Schneider et al., 2012) y se calculó el crecimiento como la resta entre la longitud media del cuerpo antes y después de la incubación.

Se expresaron los resultados de crecimiento como porcentaje de los valores medios para cada muestra de agua respecto a los obtenidos para el control en buffer.

### *Análisis estadístico*

Los datos fueron analizados utilizando el programa R (R Core Team, 2016). Previamente a los análisis, se realizó la prueba de Shapiro Wilks para probar la normalidad en nuestras variables, rechazando la misma en todas, excepto para T, pH y crecimiento relativo de los nematodos. Para comparar las muestras discriminadas por localizaciones y estaciones, se utilizó la prueba no paramétrica de Mann Whitney (Conover, 1980). Esta prueba basada en el rango, no hace suposiciones acerca de la distribución de las variables y mantiene una razonable eficiencia relativa asintótica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Análisis de parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos*

En las tablas 1 y 2 se muestran el mínimo, el máximo, la media y la mediana del conjunto de datos de parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos. La diferencia entre la media y la mediana ha sido utilizada para evaluar el valor más frecuente de la dispersión promedio entre las series. Se puede observar que los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos exhiben una amplia gama de valores entre los sitios de la cuenca superior e inferior; los valores de la media y la mediana no difieren mucho entre los sitios de monitoreo, aunque algunos de ellos señalan que los sitios de monitoreo seleccionados tienen diferentes características físico-químicas y bacteriológicas.

Respecto al pH medido, no se encontró ninguna variación significativa ni a lo largo del río ni entre las estaciones del año, con valores comprendidos entre 6,5 y 7,9 ( $p$  valor  $> 0,1$ ). Se detectó un fuerte aumento en la salinidad (expresado como CE), así como en la concentración de  $SO_4^{2-}$  en VU, CA, TB y SM, en comparación con A, Y y LT ( $p$  valor  $< 0,01$ ) (Tabla 1). Los valores de CE superan el límite máximo permisible ( $900 \mu S cm^{-1}$ ) en VU, CA, TB y SM, a pesar de que todos los sitios estaban por debajo del límite máximo tolerable ( $1800 \mu S cm^{-1}$ ) establecido para agua de riego (DGI, 1996). Sin embargo, en SM se midieron valores tres veces más altos que en los sitios de la cuenca superior (A, Y y LT). Varios informes indican que el aumento del uso de las aguas subterráneas (con alta CE) para el riego en el Alto Tunuyán y su consiguiente escorrentía podría ser los responsables de la salinización del río Tunuyán

Inferior, mientras que la alta concentración de  $\text{SO}_4^{2-}$  en la cuenca baja podría deberse a la composición natural del suelo en la zona (Chambouleyron et al, 1993; Lavié et al, 2008). En el caso de la concentración de  $\text{PO}_4^{3-}$ , se detectaron valores superiores a los límites de regulación ( $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ ) durante el mes de mayo y en todos los sitios de monitoreo (DGI, 1996). Esta alta concentración podría explicarse por una disminución del flujo de agua durante la toma de muestras de los meses de otoño e invierno.

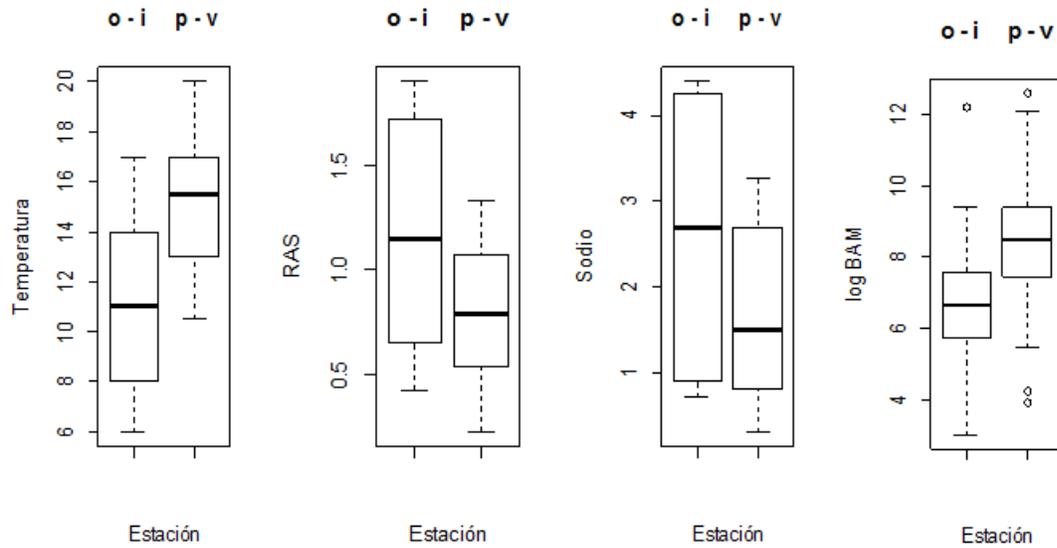
La concentración de  $\text{NO}_3^-$  y de  $\text{Cl}^-$  se encuentran por debajo de los límites de regulación para agua de riego de la región de Mendoza (concentración máxima tolerable de  $45 \text{ mg L}^{-1}$  para  $\text{NO}_3^-$  y  $400 \text{ mg L}^{-1}$  para  $\text{Cl}^-$  respectivamente; DGI, 1996).

Respecto de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{NO}_3^-$  no se encontraron diferencias significativas ni entre los sitios de monitoreo ni entre los diferentes períodos estacionales ( $p \text{ valor} > 0,1$ ) (Tabla 1). Cuando estas concentraciones de iones se compararon entre los dos grupos VU, CA, TB y SM por un lado y A, Y y LT por otro, se observaron diferencias significativas ( $p \text{ valor} < 0,01$ ). Los valores más altos de DQO fueron encontrados en A, VU y CA (valores promedio de 26, 20 y  $26,3 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente), especialmente durante la temporada de primavera, sugiriendo una contaminación orgánica debida posiblemente a un aumento en las actividades recreativas y ganaderas (Salatino et al., 2014).

El análisis de los parámetros bacteriológicos reveló la fluctuación de los valores a lo largo del año con un fuerte incremento durante noviembre y diciembre (datos puntuales no mostrados). En este sentido, la media y la mediana en el caso de la medición de BAM difieren en un orden de magnitud en A, Y, LT y TB (Tabla 2). Cuando el dato de BAM de estos sitios agrupados se comparó con el grupo VU, CA y SM se detectó una diferencia moderada ( $p \text{ valor} < 0,01$ ). Las mayores concentraciones de BAM, CT y CTT se detectaron en CA y TB, mientras que los valores más bajos se encuentran en A, Y y LT, donde se supone que el agua sea más prístina. El aumento de la concentración bacteriana podría explicarse por el arrastre superficial de excrementos de la actividad ganadera, así como también por descargas domésticas dispersas.

A partir de los resultados obtenidos en los monitoreos, se comprobó que algunos de los parámetros fisicoquímicos presentaban mayor concentración durante ciertos periodos del año. Por este motivo, se buscó agrupar los datos de manera de realizar un análisis estacional de la calidad del agua del río Tunuyán. Para ello se agruparon por un lado los meses de marzo, abril, mayo y agosto en otoño e invierno (O-I) y, por otro lado septiembre, octubre, noviembre y diciembre en los meses de primavera y verano (P-V).

Una vez rechazada la normalidad de las variables mediante la prueba de Shapiro Wilks, seguidamente y utilizando el test no paramétrico de Mann Whitney (Conover, 1980), basado en rangos para igualdad de medias en otoño-invierno y en primavera-verano, se rechazó la hipótesis nula de igualdad de medias, a favor de diferencias estacionales. Se realizó un análisis boxplot con el propósito de mostrar la dispersión de los grupos de datos, la posición de la mediana y los valores atípicos. A continuación se presentan los análisis por estación (otoño-invierno vs. en primavera-verano) de aquellos parámetros que mostraron diferencias significativas como Temperatura ( $p \text{ valor}=0,0003$ ), RAS ( $p \text{ valor}=0,0127$ ),  $\log\text{BAM}$  ( $p \text{ valor}=0,0061$ ) y  $\text{Na}^+$  ( $p \text{ valor}=0,0301$ ) (Figura 2).



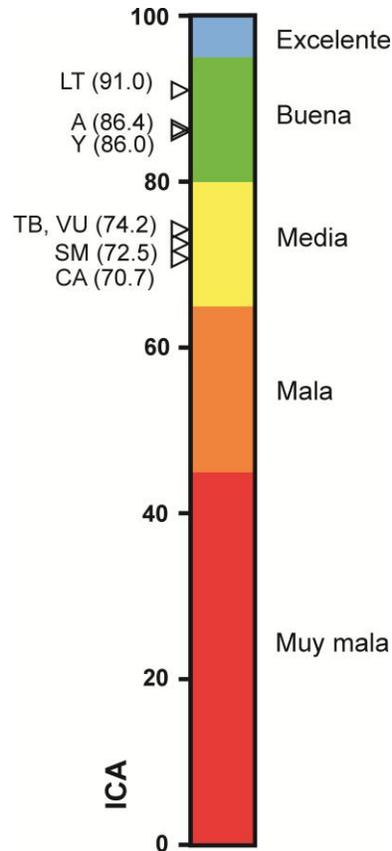
**Figura 2.-** Análisis boxplot de los valores de parámetros fisicoquímicos analizados por estación: otoño-invierno (O-I) y primavera-verano (P-V). Se graficaron la temperatura, RAS, sodio y el logaritmo de la concentración de BAMB

Los datos generados en esta sección mostraron una variación espacio-temporal en la calidad del agua en el río Tunuyán altamente dependiente de las actividades antrópicas. Por lo tanto, la aplicación de una herramienta integrada que pueda sintetizar todos estos resultados fisicoquímicos y bacteriológicos sería útil para un mejor entendimiento del estado de la calidad del agua.

### *Índice de Calidad de Aguas*

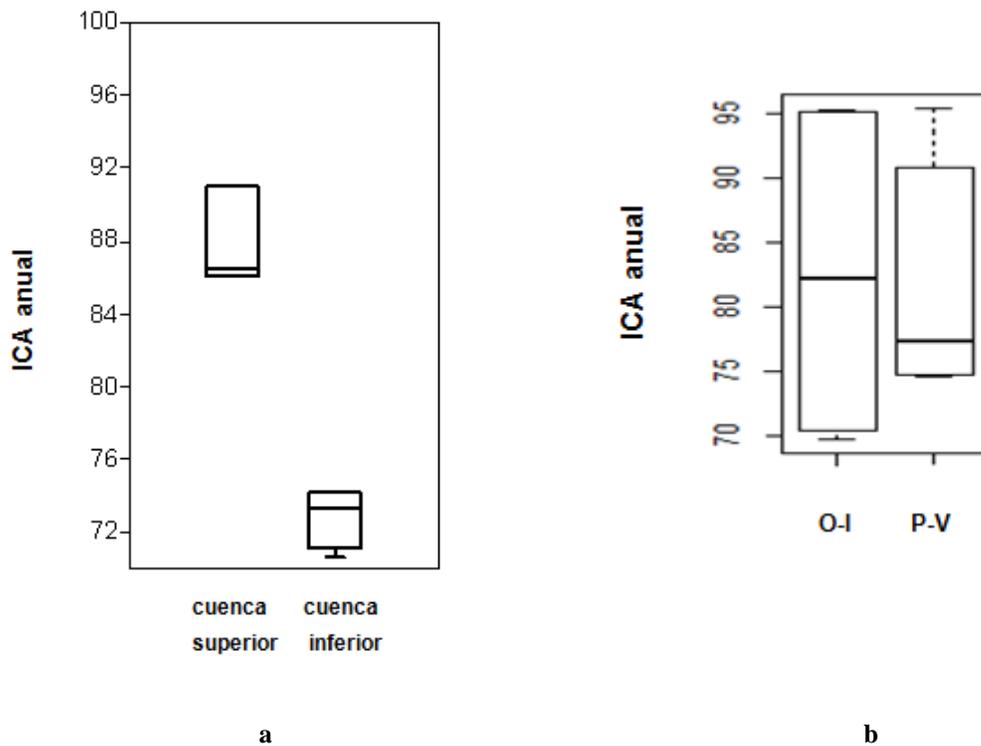
El valor del ICA más alto se calculó para LT (91) seguido de A e Y con valores de 86,4 y 86 respectivamente. De acuerdo con el CCME, los tres valores pertenecen a una categoría "buena" de calidad de agua (Figura 3). En el sitio VU presentó un valor del ICA de 74,2 que cae en la categoría "media" en la clasificación de la calidad del agua. Si bien este sitio pertenece geográficamente a la cuenca alta, su calidad presenta características similares a lo observado en los sitios de la cuenca inferior. Una posible explicación es que en VU hay cinco parámetros que exceden los límites legales permitidos según la DGI para agua para riego, tres más ( $\text{SO}_4^{2-}$ , RAS y CE) que los puntos TB, A e Y (Salatino et al., 2014).

Los sitios en la cuenca baja, CA, TB y SM presentaron valores bajos del ICA de 74,2; 70 y 72,5 respectivamente todos ellos dentro de la categoría "media" (Figura 3):



**Figura 3.-** Valores del ICA para los diferentes sitios de monitoreo de la cuenca del río Tunuyán.

Estos resultados coinciden con el hecho de que la cuenca del Alto Tunuyán tiene una mejor calidad del agua, con excepción del punto VU. Para reforzar este resultado, se hizo también una comparación de los valores del ICA agrupados por cuencas, por un lado la cuenca superior en la que consideramos los puntos LT, A, Y y VU y por otro la cuenca inferior en la que se incluye también el punto CA, que aun perteneciendo geográficamente a la cuenca alta, constituye la salida de la misma y queda próxima a la cuenca baja (CA, TB y SM). Los resultados indicaron una clara diferencia entre dichas cuencas (Figura 4a).



**Figura 4.-** (a) Análisis boxplots de los valores del ICA por cuencas (superior: sitios VU, LT, Y y A; inferior: sitios CA, TB y SM) y (b) por estaciones: otoño e invierno (O-I) versus primavera y verano (P-V).

En la cuenca inferior, los valores de ICA fueron 74,2; 70,7 y 72,5 para CA, TB y SM respectivamente (categoría "media"). Esta pequeña fluctuación en la calidad del agua desde CA a TB podría ser debido a una mejora puntual de dicha calidad después de la salida del curso de agua del embalse El Carrizal.

También se vio una clara diferencia estacional de los valores (Figura 4b).

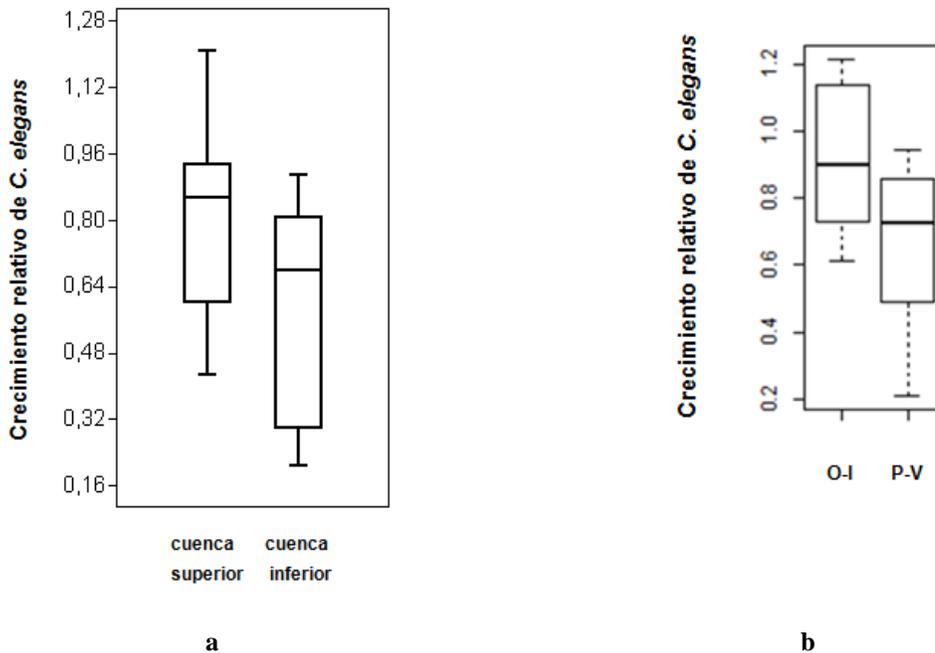
La implementación de los ICA ha permitido sintetizar en un número, la calidad registrada a lo largo del río Tunuyán, señalando que predomina una buena calidad en la cuenca superior y un marcado deterioro en la cuenca inferior.

### *Bioensayo con C. elegans*

Con objeto de obtener una evaluación integrada de la calidad del agua del río Tunuyán, se realizó el bioensayo de crecimiento relativo de *C. elegans*. Los valores de la mediana del crecimiento relativo del nematodo mostraron una pequeña disminución en comparación con el control en A (0,86), Y (0,90) y LT (0,74). También se midieron valores más pequeños de crecimiento relativo en los otros sitios de monitoreo (0,65; 0,74; 0,63 y 0,70 para VU, CA, TB y SM, respectivamente). Además los valores medios del crecimiento relativo del bioensayo, agrupados por cuenca (Figura 5a), muestran que hay una clara diferencia entre la cuenca superior y la cuenca inferior del río. Coincidiendo con el resultado arrojado en el análisis por cuenca de los valores ICA (Figura 4a), donde la cuenca superior de condiciones más prístinas, revela mayor crecimiento relativo del nematodo. Este notable efecto toxicológico durante los meses cálidos, va en consonancia con las observaciones anteriores que muestran que durante esta estación

la calidad del agua disminuye debido al intenso uso recreativo y agrícola-ganadero (Lavié et al, 2008; Morábito et al, 2012).

En la figura 5b se muestra el análisis de los valores medios del crecimiento relativo en otoño-invierno y en primavera-verano, mostrando diferencias estacionales. Esto también coincide con los resultados obtenidos en la Figura 4b, con el análisis estacional de los datos del ICA.



**Figura 5.-** (a) Análisis de los valores de crecimiento relativo de *C. elegans* analizados por cuencas (superior: sitios VU, LT, Y y A; inferior: sitios CA, TB y SM) y (b) por estaciones: otoño e invierno (O-I) versus primavera y verano (P-V).

Sorprendentemente, a pesar de que el sitio LT presenta el valor más alto del ICA (91), categoría “buena”, el ensayo de crecimiento relativo con *C. elegans* fue de 0,74, lo que indica que hubo un efecto moderadamente tóxico. Esto sugiere que no siempre los valores de los índices de calidad de aguas clásicos son suficientes para evaluar la calidad del agua o para proteger a los organismos acuáticos. Por lo tanto, sería necesaria la realización de ensayos toxicológicos adicionales para obtener una evaluación integrada y más realista del estado de las aguas.

### *Crecimiento relativo versus ICA*

Adicionalmente, y con el fin de evaluar la relación entre el crecimiento relativo de *C. elegans* (como variable respuesta) y los datos del ICA (como variable explicativa), se realizó un análisis de regresión lineal, de tal manera que cada valor individual del ICA por cada sitio muestreado se correlacionó con el valor medio mensual de crecimiento relativo de *C. elegans*. Se encontró una asociación lineal débil ( $R^2 = 0,1409$ ) entre el ICA y el crecimiento relativo del nematodo y una gran dispersión de los valores de

crecimiento relativo de *C. elegans* para cada valor del ICA. Una explicación podría ser que los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos utilizados en la ICA no explican el total de la variación del crecimiento del nematodo. Otra posibilidad es que la gran dispersión sea debida a que para cada uno de los siete valores de ICA anuales (uno para cada punto de control) había ocho valores mensuales de crecimiento relativo de *C. elegans*. Además, los valores de crecimiento de *C. elegans* presentan importantes diferencias estacionales que generan dispersión en los datos.

Este resultado pone de relieve la idea de que la mejor o peor calidad del agua (como se refleja en los ICA) no está necesariamente vinculada a su condición toxicológica, que sí que se refleja en la respuesta de *C. elegans*. Es por esto que se sugiere la necesidad de incorporar bioensayos ecotoxicológicos, tal como el crecimiento relativo de *C. elegans*, en los monitoreos de rutina, de tal manera que se evalúen diferentes aspectos que hacen a la calidad integral del agua. De este modo, se podrán establecer nuevos marcos de evaluación de la integridad del recurso para uso de riego y de los riesgos que supone los efectos de la contaminación (CMNUCC, 2014).

## CONCLUSIÓN

El análisis realizado muestra que existe una marcada diferencia estacional entre las medias de diversos parámetros de calidad del agua. Los valores del ICA fueron menores durante la estación estival donde también disminuyó el crecimiento del nematodo. Se observó una débil correlación positiva entre ambas variables, indicando que la toxicidad no siempre está directamente relacionada con el deterioro de calidad descrito por los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos.

Los resultados subrayan que el bioensayo de crecimiento relativo con *C. elegans*, junto con el análisis tradicional de calidad del agua, es una herramienta valiosa para evaluar los efectos toxicológicos a fin de estimar las amenazas ambientales sobre el recurso. *C. elegans* ha demostrado ser un organismo sensible para evaluar los efectos de múltiples factores de estrés en los ecosistemas (Höss y Weltje, 2007; Höss et al, 2013; Cesnaitis et al, 2014; Hägerbäumer et al, 2015, Clavijo et al, 2016). Es más, el crecimiento relativo como parámetro respuesta ha mostrado ser adecuado para detectar la interacción de contaminantes ambientales en muestras de agua que con los métodos tradicionales no serían detectables, especialmente en países con escasos recursos económicos donde se dificulta el llevar a cabo análisis analíticos para detectar una amplia gama de contaminantes y sus interacciones.

***Agradecimientos.** Este estudio ha sido financiado por Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva a través de Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), con el PICT-PRH 2014/0002 y PICT 2014/3293 de la Dra. Munarriz, y el ANPCyT-PID 0032/2011 del Dr. Pagano. La financiación también fue proporcionada por la Secretaría de Ciencia, Técnica y Postgrado de la Universidad Nacional de Cuyo (SECTyP - UNCUYO) y de la Corporación Vitivinícola Argentina (COVIAR). Un especial agradecimiento a C. Dediol, A. Bermejillo, A. Stocco, O. Tapia y D. Genovese, docentes e investigadoras de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo.*

## REFERENCIAS

- APHA, American Public Health Association, 2012. Standard Methods for examination of water and wastewater. 22nd Edition. *Washington Am Public Heal Assoc.* Washington.
- ASTM, American Society for Testing and Materials, 2014. E 2172 -01 Standard guide for conducting laboratory soil toxicity tests with the nematode *Caenorhabditis elegans*. *American Society for Testing and Materials*, Pennsylvania.
- Canadian Council of Ministers of the Environment Water Quality Index (CCME WQI) for the Communication of Drinking Water Quality Data in Newfoundland and Labrador. *Water Qual Res J Canada* 39, 285–293.
- Cesnaitis, R., Sobanska, M.A., Versonnen, B., Sobanski, T., Bonnomet, V., Tarazona, J. V., De Coen, W., 2014. Analysis of the ecotoxicity data submitted within the framework of the REACH Regulation. Part 3. Experimental sediment toxicity assays. *Sci Total Environ* 475, 123-131. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.10.059
- Chambouleyron, J., Morábito, J., Salatino, S., Mirábile, C., Medina, R., Zimmerman, M., Campos, S., Solanes, R., Nacif, N., 1993. La contaminación del agua de riego en Mendoza, Argentina. Prevención de la contaminación del agua por la agricultura y actividades afines. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Santiago de Chile.
- Clavijo, A., Kronberg, M. F., Rossen, A., Moya, A., Calvo, D., Salatino, S. E., ... & Munarriz, E. R. (2016). The nematode *Caenorhabditis elegans* as an integrated toxicological tool to assess water quality and pollution. *Science of The Total Environment*, 569, 252-261.
- CMNUCC (2014). Biennial Assessment and Overview of Climate Finance Flows Report. *Comité Permanente de la CMNUCC sobre Finanzas*, Bonn, Alemania.
- Conover, W.J., 1980. Practical non parametric statistics, 2nd Edition. Wiley, Minneapolis.
- Departamento General de Irrigación (DGI), 1996. Resolución 778: Reglamento general para el control de la contaminación hídrica, Mendoza.
- Gervasi, 2001. Jornadas de Salicáceas Mendoza 2009. El manejo del recurso agua en Mendoza. Experiencias en salicáceas. *FCA-UNCuyo – INA*, Mendoza, Argentina.
- Hägerbäumer, A., Höss, S., Heininger, P., Traunspurger, W., 2015. Experimental Studies with Nematodes in Ecotoxicology: An Overview. *J Nematol* 47, 11-27.
- Höss, S., Weltje, L., 2007. Endocrine disruption in nematodes: Effects and mechanisms. *Ecotoxicology* 16, 15–28. doi:10.1007/s10646-006-0108-y
- Höss, S., Menzel, R., Gessler, F., Nguyen, H.T., Jehle, J. A., Traunspurger, W., 2013. Effects of insecticidal crystal proteins (Cry proteins) produced by genetically modified maize (Bt maize) on the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environ Pollut* 178, 147–151. doi:10.1016/j.envpol.2013.03.002

- Hunt, P., Olejnik, N., Sprando, R.L., 2012. Toxicity ranking of heavy metals with screening method using adult *Caenorhabditis elegans* and propidium iodide replicates toxicity ranking in rat. *Food Chem Toxicol* 50, 3280–3290.
- ISO, International Organization for Standardization, 2010. ISO 10872: 2010. Water quality-Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). *International Organization for Standardization*, Geneva.
- Kaletta, T., Hengartner, M.O., 2006. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. *Nat Rev Drug Discov* 5, 387-98. doi:10.1038/nrd2031
- Kannel PR, Lee S, Lee YS, Kanel SR, Khan SP (2007) Application of water quality indices and dissolved oxygen as indicators for river water classification and urban impact assessment. *Environ Monit Assess* 132:93–110
- Laviè, E., Moràbito, J.A., Salatino, S., 2008. Problèmes de pollution phosphatée de l'eau d'irrigation en zones aval d'oasis : le cas de la quatrième zone agricole irriguée de l'oasis du rio Mendoza, Argentine. *XIII<sup>o</sup> World Water Congr International Water Resour Assoc. IWRAC*, Carbondale.
- Laviè, E., Moràbito, J.A., Salatino, S., 2014. Aplicación de índices integradores de calidad hídrica al piedemonte andino Argentino. Ingeniería hidráulica en México. *Inst. Mexicano Tecnología Agua. México*. 2014 vol.5 n°5. p - . ISSN 0186-4076.
- Leung, M., Williams, P.L., Benedetto, A., Au, C., Helmcke, K.J., Aschner, M., Meyer, J.N., 2008. *Caenorhabditis elegans*: An Emerging Model in Biomedical and Environmental Toxicology. *Toxicol Sci* 106, 5-28. doi:10.1093/toxsci/kfn121.
- Moràbito J., Salatino S., Filippini M., Bermejillo A., Valdés A., Abaurre V., 2011. Indicadores físico químicos de desempeño ambiental: área regadía del río Mendoza. *II Congr Int sobre Gestión y Trat Integr del Agua*. Univ Nac Córdoba, Córdoba.
- Moràbito J., Salatino S.E., Medina R., Miralles S., Dediol C., Nacif N., Mastrantonio L., Ortíz N., Burgos V., 2012. Indicadores químico-microbiológicos de calidad de las aguas del río Tunuyán superior (Mendoza, Argentina). *CLICAP. Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria – UNCuyo*, San Rafael, Mendoza
- Torres, P., Cruz C., Patiño, P., Escobar, J.C., Pérez, A., 2010. Aplicación de índices de calidad de agua — ICA orientados al uso de la fuente para consumo humano. *Ing Investig*, 30 (2010), pp. 86–95
- Pesce SF, Wunderlin DA, 2000. Use of water quality indices to verify the impact of Cordoba city (Argentina) on Suquy'a River. *Water Res* 34(11):2915–2926
- R Core Team, 2016. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna. <http://www.R-project.org/>.
- Roh, J. Y., & Choi, J. (2008). Ecotoxicological evaluation of chlorpyrifos exposure on the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 71(2), 483-489.
- Salatino, S.E., Morabito, J., Laviè, E., 2014. The Northern and Central Oases of the Province of Mendoza (Argentina): water resources and sustainability challenges. *Cresc prodig Cent pour la Commun Sci directe* 189–196.

- Sanchez E., Colmenarejo MF., Vicente J., Rubio A., Garcia MG., Travieso L., 2006. Use of the water quality index and dissolved oxygen deficit as simple indicators of watersheds pollution. *Ecological Indicators*. doi:10.1016/j.ecolind.2006.02.005
- Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W., 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 7, 671-675.
- Sharma D., Kansal A. Water quality analysis of River Yamuna using water quality index in the national capital territory, India (2000-2009). *Applied Water Science*, 1, 147, 2011
- Statistics Canada, 2014. CCME: Canadian Environmental Sustainability Indicators, Freshwater Quality Indicator: Data Sources and Methods. *Publishing Services Government of Canada*, Ottawa (doi:16-256-XIE).
- Tominaga, N., Kohra, S., Iguchi, T., & Arizono, K. (2003). A multi-generation sublethal assay of phenols using the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Journal of health science*, 49(6), 459-463.

**Tabla 1.-** Parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua

| Sitio                            |         | T °C | Q                              | pH   | CE                  | RAS  | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | P                  | DQO                | OD                 | Cl <sup>-</sup>    | Na <sup>+</sup>    | K <sup>+</sup>     | Ca <sup>2+</sup>   | Mg <sup>2+</sup>   |
|----------------------------------|---------|------|--------------------------------|------|---------------------|------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                                  |         |      | m <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> |      | µS cm <sup>-1</sup> |      | mg L <sup>-1</sup>            | mg L <sup>-1</sup>           | mg L <sup>-1</sup>           | mg L <sup>-1</sup>            | mg L <sup>-1</sup> | mg L <sup>-1</sup> | mg L <sup>-1</sup> | mg L <sup>-1</sup> | mg L <sup>-1</sup> | mg L <sup>-1</sup> | mg L <sup>-1</sup> | mg L <sup>-1</sup> |
| <b>Aguanda<br/>(A)</b>           | Media   | 14.8 | 0.83                           | 7.29 | 403.8               | 0.59 | 90.00                         | 126.00                       | 1.55                         | 0.43                          | 0.14               | 26.00              | 7.30               | 27.96              | 19.18              | 3.46               | 57.00              | 13.80              |
|                                  | Mediana | 16.3 | 0.77                           | 7.31 | 400.0               | 0.63 | 103.73                        | 129.60                       | 1.33                         | 0.38                          | 0.12               | 18.00              | 7.40               | 26.63              | 20.70              | 2.93               | 56.00              | 12.00              |
|                                  | DE      | 3.9  | 0.15                           | 0.37 | 37.3                | 0.15 | 29.49                         | 25.24                        | 0.53                         | 0.18                          | 0.06               | 29.59              | 0.38               | 4.00               | 4.73               | 2.67               | 4.90               | 5.70               |
|                                  | Min     | 7.0  | 0.72                           | 6.60 | 350.0               | 0.26 | 36.61                         | 91.20                        | 0.89                         | 0.24                          | 0.08               | 2.00               | 6.80               | 24.85              | 9.20               | 1.56               | 50.00              | 7.20               |
|                                  | Max     | 19.0 | 1.14                           | 7.83 | 481.0               | 0.78 | 115.94                        | 158.40                       | 2.66                         | 0.73                          | 0.24               | 76.00              | 7.60               | 35.50              | 25.30              | 9.75               | 64.00              | 24.00              |
| <b>Yaucha<br/>(Y)</b>            | Media   | 13.8 | 1.83                           | 7.32 | 245.5               | 0.63 | 110.60                        | 25.20                        | 1.94                         | 1.03                          | 0.33               | 15.67              | 7.66               | 25.29              | 15.61              | 1.80               | 37.00              | 6.00               |
|                                  | Mediana | 14.8 | 1.73                           | 7.50 | 245.0               | 0.73 | 122.04                        | 21.60                        | 1.77                         | 0.82                          | 0.22               | 6.00               | 7.80               | 24.85              | 18.40              | 1.56               | 36.00              | 4.80               |
|                                  | DE      | 3.6  | 0.50                           | 0.48 | 26.0                | 0.23 | 29.07                         | 23.48                        | 0.88                         | 0.84                          | 0.28               | 18.50              | 0.48               | 5.51               | 5.79               | 1.43               | 4.00               | 4.21               |
|                                  | Min     | 6.0  | 1.41                           | 6.50 | 190.0               | 0.26 | 61.02                         | 0.00                         | 0.89                         | 0.29                          | 0.10               | 4.00               | 6.90               | 17.75              | 6.90               | 0.78               | 32.00              | 1.20               |
|                                  | Max     | 18.0 | 3.03                           | 7.86 | 270.0               | 0.86 | 134.24                        | 72.00                        | 3.54                         | 2.42                          | 0.79               | 37.0               | 8.10               | 31.95              | 20.70              | 5.07               | 42.00              | 12.00              |
| <b>Las<br/>Tunas<br/>(LT)</b>    | Media   | 12.2 | 1.23                           | 7.26 | 532.6               | 0.45 | 55.68                         | 210.00                       | 2.44                         | 0.42                          | 0.13               | 6.25               | 7.96               | 31.95              | 17.11              | 2.58               | 62.50              | 27.90              |
|                                  | Mediana | 12.0 | 1.19                           | 7.29 | 520.5               | 0.44 | 42.71                         | 213.60                       | 1.77                         | 0.22                          | 0.07               | 7.00               | 7.60               | 31.95              | 17.25              | 2.54               | 64.00              | 25.80              |
|                                  | DE      | 3.3  | 0.50                           | 0.28 | 48.8                | 0.12 | 25.98                         | 33.53                        | 1.34                         | 0.48                          | 0.16               | 3.10               | 1.29               | 5.02               | 4.82               | 0.69               | 6.74               | 6.53               |
|                                  | Min     | 7.0  | 0.31                           | 6.80 | 480.0               | 0.23 | 30.51                         | 139.20                       | 1.33                         | 0.13                          | 0.04               | 2.00               | 6.10               | 24.85              | 9.20               | 1.95               | 50.00              | 20.40              |
|                                  | Max     | 17.0 | 2.10                           | 7.72 | 600.0               | 0.61 | 97.63                         | 254.40                       | 5.32                         | 1.47                          | 0.48               | 9.00               | 10.10              | 39.05              | 25.30              | 3.90               | 70.00              | 37.20              |
| <b>Valle de<br/>Uco<br/>(VU)</b> | Media   | 10.9 | 6.81                           | 7.21 | 1231.3              | 1.22 | 125.85                        | 327.60                       | 2.23                         | 0.64                          | 0.21               | 20.00              | 8.53               | 158.86             | 65.55              | 4.83               | 176.00             | 22.95              |
|                                  | Mediana | 12.0 | 6.73                           | 7.17 | 1285.0              | 1.13 | 109.84                        | 319.20                       | 2.22                         | 0.58                          | 0.19               | 25.50              | 9.30               | 143.78             | 60.95              | 3.51               | 176.00             | 18.00              |
|                                  | DE      | 2.1  | 1.84                           | 0.34 | 177.6               | 0.41 | 71.23                         | 104.59                       | 0.84                         | 0.51                          | 0.17               | 12.03              | 1.05               | 48.96              | 24.65              | 2.59               | 17.27              | 11.25              |

|                 |         |      |       |      |        |      |        |        |      |      |      |       |      |        |        |       |        |        |
|-----------------|---------|------|-------|------|--------|------|--------|--------|------|------|------|-------|------|--------|--------|-------|--------|--------|
|                 | Min     | 6.0  | 4.23  | 6.70 | 980.0  | 0.61 | 42.71  | 134.40 | 0.89 | 0.00 | 0.00 | 2.00  | 6.90 | 110.05 | 32.20  | 2.73  | 156.00 | 12.00  |
|                 | Max     | 12.0 | 9.33  | 7.78 | 1470.0 | 1.86 | 280.69 | 513.60 | 3.54 | 1.74 | 0.57 | 27.0  | 9.40 | 230.75 | 101.20 | 9.75  | 196.00 | 39.60  |
|                 | Media   | 13.6 | 15.30 | 7.22 | 1371.3 | 1.24 | 183.82 | 393.00 | 1.61 | 0.65 | 0.22 | 26.25 | 7.64 | 144.22 | 69.98  | 8.53  | 190.75 | 31.05  |
| <b>Costa</b>    | Mediana | 14.0 | 13.89 | 7.16 | 1395.0 | 1.23 | 186.11 | 357.60 | 1.55 | 0.36 | 0.12 | 16.50 | 7.60 | 142.00 | 67.85  | 7.80  | 184.00 | 29.40  |
| <b>Anzorena</b> | DE      | 2.6  | 3.10  | 0.32 | 149.7  | 0.40 | 68.37  | 82.04  | 0.62 | 0.69 | 0.23 | 21.90 | 1.13 | 18.87  | 22.05  | 2.07  | 25.45  | 11.48  |
| <b>(CA)</b>     | Min     | 8.0  | 12.84 | 6.90 | 1160.0 | 0.61 | 54.92  | 321.60 | 0.89 | 0.15 | 0.05 | 13.00 | 5.90 | 117.15 | 34.50  | 5.85  | 156.00 | 15.60  |
|                 | Max     | 16.0 | 22.13 | 7.74 | 1560.0 | 1.90 | 280.69 | 532.80 | 2.66 | 2.29 | 0.75 | 59.0  | 9.00 | 170.40 | 98.90  | 11.70 | 232.00 | 45.60  |
|                 | Media   | 14.9 | 39.49 | 7.26 | 1380.1 | 1.23 | 157.89 | 429.00 | 1.44 | 0.37 | 0.12 | 12.75 | 7.18 | 147.33 | 69.26  | 7.85  | 192.00 | 36.00  |
| <b>Tiburcio</b> | Mediana | 15.5 | 40.25 | 7.27 | 1385.0 | 1.14 | 164.75 | 408.00 | 1.55 | 0.35 | 0.11 | 13.00 | 7.15 | 152.65 | 62.33  | 7.80  | 190.00 | 25.20  |
| <b>Benegas</b>  | DE      | 4.2  | 11.88 | 0.33 | 143.9  | 0.40 | 46.52  | 74.18  | 1.18 | 0.23 | 0.07 | 7.85  | 1.09 | 17.70  | 20.55  | 3.99  | 11.86  | 28.52  |
| <b>(TB)</b>     | Min     | 8.0  | 24.50 | 6.70 | 1230.0 | 0.56 | 67.12  | 355.20 | 0    | 0    | 0    | 5.00  | 6.00 | 120.70 | 39.10  | 3.90  | 180.00 | 14.40  |
|                 | Max     | 20.0 | 52.00 | 7.69 | 1660.0 | 1.80 | 231.88 | 585.60 | 3.54 | 0.76 | 0.25 | 20.0  | 8.30 | 166.85 | 98.90  | 16.77 | 216.00 | 103.20 |
|                 | Media   | 15.9 | 1.56  | 7.21 | 1341.7 | 1.24 | 169.98 | 417.60 | 1.84 | 0.56 | 0.15 | 14.80 | 7.46 | 139.46 | 69.99  | 7.41  | 199.14 | 30.17  |
| <b>San</b>      | Mediana | 16.5 | 1.38  | 7.28 | 1350.0 | 1.23 | 170.86 | 412.80 | 1.77 | 0.40 | 0.13 | 10.00 | 7.10 | 156.20 | 64.40  | 7.80  | 200.00 | 22.80  |
| <b>Martín</b>   | DE      | 3.6  | 0.27  | 0.32 | 157.5  | 0.42 | 31.59  | 53.31  | 0.65 | 0.39 | 0.07 | 14.18 | 1.02 | 34.52  | 22.20  | 2.53  | 14.69  | 24.46  |
| <b>(SM)</b>     | Min     | 8.5  | 1.33  | 6.80 | 1140.0 | 0.58 | 140.35 | 355.20 | 0.89 | 0.21 | 0.07 | 4.00  | 6.70 | 71.00  | 39.10  | 3.90  | 180.00 | 12.00  |
|                 | Max     | 19.0 | 2.00  | 7.69 | 1550.0 | 1.80 | 231.88 | 513.60 | 2.66 | 1.33 | 0.26 | 38.00 | 9.20 | 166.85 | 98.21  | 11.70 | 222.00 | 84.00  |

Para cada sitio se calcularon los parámetros estadísticos a partir de un n=8. Q= caudal; CE= conductividad eléctrica; RAS= tasa de absorción de sodio; P= Fósforo reactivo; DQO= demanda química de oxígeno; OD= oxígeno disuelto. Los valores de fosfato ( $PO_4^{3-}$ ) se expresan como tal de acuerdo con las directrices de la DGI (DGI, 1996) y fueron los valores usados en la construcción del ICA.

**Tabla 2.-** Parámetros bacteriológicos de las muestras de agua

| Sitio               |         | BAM (UFC mL <sup>-1</sup> ) | CT (NMP mL <sup>-1</sup> ) | CTT (NMP mL <sup>-1</sup> ) |
|---------------------|---------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Aguanda (A)         | Media   | 1.58E+04                    | 7.75E+02                   | 1.15E+02                    |
|                     | Mediana | 3.35E+03                    | 2.30E+02                   | 4.00E+01                    |
|                     | DE      | 3.42E+04                    | 1.55E+03                   | 1.44E+02                    |
|                     | Min     | 4.50E+02                    | 4.00E+01                   | 3.00E+01                    |
|                     | Max     | 1.00E+05                    | 4.60E+03                   | 4.30E+02                    |
| Yaucha (Y)          | Media   | 2.47E+04                    | 6.31E+02                   | 6.18E+02                    |
|                     | Mediana | 1.85E+03                    | 5.50E+01                   | 4.00E+01                    |
|                     | DE      | 6.28E+04                    | 1.60E+03                   | 1.61E+03                    |
|                     | Min     | 1.30E+02                    | 3.00E+01                   | 3.00E+01                    |
|                     | Max     | 1.80E+05                    | 4.60E+03                   | 4.60E+03                    |
| Las Tunas (LT)      | Media   | 2.34E+03                    | 7.63E+01                   | 3.88E+01                    |
|                     | Mediana | 1.26E+02                    | 5.50E+01                   | 3.50E+01                    |
|                     | DE      | 5.56E+03                    | 6.55E+01                   | 1.36E+01                    |
|                     | Min     | 2.00E+01                    | 3.00E+01                   | 3.00E+01                    |
|                     | Max     | 1.60E+04                    | 2.30E+02                   | 7.00E+01                    |
| Valle de Uco (VU)   | Media   | 3.52E+03                    | 8.75E+01                   | 4.88E+01                    |
|                     | Mediana | 1.65E+03                    | 4.00E+01                   | 3.50E+01                    |
|                     | DE      | 3.89E+03                    | 7.80E+01                   | 4.12E+01                    |
|                     | Min     | 2.00E+01                    | 3.00E+01                   | 3.00E+01                    |
|                     | Max     | 9.30E+03                    | 2.30E+02                   | 1.50E+02                    |
| Costa Anzorena (CA) | Media   | 7.99E+04                    | 5.67E+03                   | 3.77E+03                    |
|                     | Mediana | 1.20E+04                    | 2.40E+03                   | 6.80E+02                    |
|                     | DE      | 1.12E+05                    | 7.94E+03                   | 8.22E+03                    |
|                     | Min     | 1.00E+03                    | 2.10E+02                   | 7.00E+01                    |

|                          |         |          |          |          |
|--------------------------|---------|----------|----------|----------|
|                          | Max     | 3.00E+05 | 2.40E+04 | 2.40E+04 |
|                          | Media   | 1.53E+04 | 3.15E+03 | 3.03E+03 |
|                          | Mediana | 1.60E+03 | 4.00E+01 | 3.00E+01 |
| Tiburcio<br>Benegas (TB) | DE      | 2.84E+04 | 8.43E+03 | 8.47E+03 |
|                          | Min     | 3.10E+02 | 3.00E+01 | 3.00E+01 |
|                          | Max     | 8.00E+04 | 2.40E+04 | 2.40E+04 |
|                          | Media   | 6.58E+03 | 1.21E+03 | 3.84E+02 |
|                          | Mediana | 1.85E+03 | 4.00E+02 | 3.00E+02 |
| San Martín<br>(SM)       | DE      | 1.20E+04 | 1.52E+03 | 3.11E+02 |
|                          | Min     | 7.80E+02 | 2.30E+02 | 7.00E+01 |
|                          | Max     | 3.10E+04 | 4.30E+03 | 9.00E+02 |

Para cada sitio se calcularon los parámetros estadísticos a partir de un n=8. BAM = bacterias aerobias mesofílicas; CT = coliformes totales; CTT = coliformes termotolerantes totales

### Apéndice 3.- Desarrollo de la ecuación completa ICA.

El índice de calidad de aguas (CCMICA) se calcula a partir de la suma de los cuadrados de los tres factores (F1, F2 y F3):

$$CCMICA = 100 - \left( \frac{\sqrt{F_1^2 + F_2^2 + F_3^2}}{1,732} \right) \quad (S.1)$$

F1 es el alcance y representa el porcentaje de variables que no cumple con la normativa local vigente (las variables fallidas) al menos una vez durante el período de tiempo considerado, en relación al número total de variables medidas:

$$F_1 = \left( \frac{\text{Número de variables fallidas}}{\text{Número total de variables}} \right) \times 100 \quad (S.2)$$

F2 es la frecuencia y representa el porcentaje de mediciones individuales que no cumplen con la normativa local vigente (mediciones fallidas):

$$F_2 = \left( \frac{\text{Número de mediciones fallidas}}{\text{Número total de mediciones}} \right) \times 100 \quad (\text{S.3})$$

F3 es la amplitud y representa la cantidad por la cual las mediciones fallidas no cumplen con la normativa local vigente:

$$F_3 = \left( \frac{nse}{nse+1} \right) \times 100 \quad (\text{S.4})$$

$$nse > 0, \text{ entonces: } 0 < nse/(nse+1)$$

donde nse es la suma normalizada de excursiones e indica la cantidad global por la cual una medición individual están fuera de cumplimiento. Se calcula sumando todas las excursiones y dividiendo por el número total de mediciones (tanto los que cumplen los límites como los que no):

$$nse = \frac{\sum_{i=1}^n excursion_i}{\text{numero de mediciones}} \quad (\text{S.5})$$

La excursión es el número de veces que una concentración individual es mayor que los límites (o menor que, si el límite es el mínimo) y viene calculado como:

$$excursion_i = \left( \frac{\text{valor de mediciones fallidas}_i}{\text{Limite}_j} \right) - 1 \quad (\text{S.6})$$

O para los casos en los cuales el valor de la medición no está por debajo del límite:

$$excursion_i = \left( \frac{\text{Limite}_j}{\text{valor de mediciones fallidas}_i} \right) - 1 \quad (\text{S.7})$$