

**RESISTENCIA A DIVERSOS COMBUSTIBLES DERIVADOS
DEL PETROLEO EN *Cnesterodon decemmaculatus*
(PISCES, CYPRINODONTIFORMES)**

**RESISTANCE TO DIFFERENT GASOLINE AND OTHER
PETROLEUM-HYDROCARBON DERIVATES IN
Cnesterodon decemmaculatus (PISCES, CYPRINODONTIFORMS)**

Sergio E. GÓMEZ^{1,2}
Anabella GIUSTO¹
Carolina R. BELTRAMI¹
Jimena Gonzalez NAYA¹

RESUMEN

Mediante la técnica de "máximo crítico" (MC) se estudia la resistencia de *Cnesterodon decemmaculatus* a distintos combustibles derivados del petróleo. Se realizaron pruebas adicionales con *Jenynsia lineata* y *Poecilia reticulata*. Los valores promedio (MC) obtenidos para *C. decemmaculatus*, en orden decreciente, (desviaciones estándar entre paréntesis) fueron: Nafta super 98 octanos: 1,1 (0,32); Nafta super 95 octanos: 1,3 (0,26); Nafta común 85 octanos: 2,3 (1,33); Nafta de aviación 100-130 octanos: 4,1 (0,58); Aerokerosene JetA-1: >7 y Gas oil: >7 cc/l. Utilizando nafta común, los MC de *C. decemmaculatus*, *P. reticulata* y *J. lineata* no mostraron diferencias significativas ($F= 2,088$; $p>0,05$), pudiéndose considerar un MC promedio de 2,8 (0,43) cc/l. Realizando ensayos con nafta común y aguas de distintas salinidades ($S: 0,005$ a $36,45$ gr/l), se determinó para *C. decemmaculatus*, una correlación significativa ($r= -0,836$; $p<0,05$) entre S y MC, el análisis de regresión también fue significativo ($p<0,05$; $n= 10$; $R^2= 69,85\%$) resultando: $MC= \exp(0,850+S \cdot -0,027)$. Estos valores servirán para evaluaciones de impacto ambiental, para generar datos comparativos con otros *Cyprinodontiformes* que son usados como indicadores biológicos, y en programas de monitoreo.

Palabras claves: hidrocarburos derivados de petróleo, naftas, ecotoxicología, bioensayos, *Cyprinodontiformes*, *Cnesterodon decemmaculatus*.

ABSTRACT

Following the "maximum critical" (MC) technique, the resistance to different gasoline and petroleum-hydrocarbon derivatives in *Cnesterodon decemmaculatus* was studied.

⁽¹⁾ Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia". Av. Angel Gallardo 470 C. 1405 DJR Buenos Aires, República Argentina.

⁽²⁾ Instituto de Limnología "R. A. Ringuelet" cc 712 C. 1900 La Plata, República Argentina.

Additional bioassays were carried out in Poecilia reticulata and Jenynsia lineata. The average values (MC) obtained in C. decemmaculatus in decreasing order (standard deviation in brackets) were: Super gasoline 98 octane: 1.1 (0.32); Super gasoline 95 octane: 1.3 (0.26); Common gasoline 85 octane: 2.3 (1.33); Fuel-jet 100-130 octane: 4.1 (0.58); Aerokerosene JetA-1: >7 and Diesel oil: >7 cc/l. Using common gasoline, the differences between the MC in C. decemmaculatus, P. reticulata and J. lineata were not significant ($F= 2.088$; $p>0.05$), a general mean MC value of 2.8 cc/l (0.43) could be considered. MC values of C. decemmaculatus, with common gasoline at different water salinity (S range: 0.005 to 36.45 gr/l), were significantly correlated with salinity ($r=0.836$; $p<0.05$). Also regression analysis was significant ($p<0.05$; $n= 10$; $R^2= 69.85\%$), the relationship between variables was: $MC= \exp(0.850+S.-0.027)$. These data are useful on an environmental impact assessment, to generate comparative data with other bioindicator cyprinodontids and to apply in monitoring programs.

Key Words: *petroleum-hydrocarbons, gasoline, ecotoxicology, bioassay, Cyprinodontiforms, Cnesterodon decemmaculatus.*

INTRODUCCION

Existe una tendencia al aumento en la contaminación de cuerpos de agua, debido entre otras causas, a las pérdidas accidentales y a la falta de cuidado en la manipulación y transportes del petróleo y sus derivados. Este problema de contaminación se puede explicar por el aumento del consumo de derivados del petróleo motivado por las crecientes necesidades de la población y de la industria.

La mayoría de los estudios sobre contaminación acuática por hidrocarburos se han realizado con petróleo crudo, en el cual la toxicidad varía con la procedencia (JOHNSTON, 1977). La mayoría de los derrames de combustibles provienen de accidentes de buques petroleros y plataformas de perforación marítima (COPPOLA, 1994). Otros trabajos se han realizado con algún hidrocarburo puro de composición perfectamente conocida (DAS & KONAR., 1988; RAVINDRAN, 1988). Por el contrario existe poca información sobre la toxicidad de los combustibles comunes, particularmente en las aguas dulces, donde los "derrames" no son muy frecuentes.

Los derivados del petróleo son tóxicos y producen modificaciones físicas y químicas en los cuerpos de agua. Los aceites impregnan las superficies e impiden los intercambios gaseosos, los compuestos fenólicos impiden la absorción de oxígeno y los nafténicos son directamente tóxicos. Los efectos biológicos en la mayoría de los organismos son asfixia, deshidratación e intoxicación (RINGUELET,

1967). En el caso particular de los organismos comestibles, la alteración del sabor esta bien documentada; los peces pueden estar expuestos a concentraciones tóxicas subletales de hidrocarburos alterándose el sabor de su carne, incluso luego de su cocción (MACKIE, *et al.*, 1972), redundando en la pérdida del valor económico de la pesquería. En exposiciones crónicas, juveniles de truchas muestran una reducción en la alimentación, en el crecimiento, apariencia debilitada, y aumento del contenido de agua (LOCKHART *et al.*, 1987).

RINGUELET (1967, 1971) documenta la desaparición de especies de peces, por productos derivados de la industria petrolífera, en el área del puerto de La Plata y Delta Bonaerense. El área afectada, en mayor o menor grado, se extiende desde los 33° hasta los 35° Lat S y comprende: el río Paraná inferior, Delta del Paraná, Río de la Plata y sus afluentes. En muchos cursos de agua la ictiofauna se ha extinguido totalmente o se encuentra muy empobrecida (GOMEZ y TORESANI, 1998).

Los Cyprinodontiformes son usados habitualmente en bioensayos (HEATH, 1995; JONES, 1964). *Cnesterodon decemmaculatus*, endémico de América Neotropical, tiene una amplia distribución entre los 18° y 38° Lat. S que involucra los cinco países de la cuenca del Río de la Plata (RINGUELET *et al.*, 1967). Debido a su rápido crecimiento, fácil reproducción en cautiverio y pequeño tamaño es muy utilizado en bioensayos (DE LA TORRE *et al.*, 1997 y 2002; GARCIA *et al.*, 1998; VILLAR *et al.*, 2000).

Este trabajo tiene como objetivo principal el estudio de la resistencia de *Cnesterodon decemmaculatus*, a distintos combustibles derivados del petróleo, utilizados usualmente en la Argentina. Adicionalmente se pretende comparar la resistencia de esta especie con las de *Poecilia reticulata* y *Jenynsia lineata* a la nafta común, y estudiar el efecto letal de este combustible en aguas de distintas salinidades en *C. decemmaculatus*.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó la técnica del «máximo crítico» (BECKER y GENOWAY, 1979; PALADINO *et al.*, 1980; GIUSTO *et al.*, 1998; CASSARA *et al.*, 1999) que brinda una medida indirecta de la resistencia de la especie frente a valores extremos de variables ambientales, y permite una rápida comparación entre diferentes compuestos o especies. Consiste en someter a un grupo de individuos al agregado progresivo y constante del contaminante, registrando las concentraciones individuales de muerte (Ci). El promedio aritmético de las Ci es el denominado Máximo Crítico (MC).

Los combustibles se emplearon en su forma pura y fueron agregados en la cámara de experimentación, de un litro de capacidad, a una velocidad constante de 0,5 cc cada 30 minutos (CASSARA *et al.*, 1999). Los experimentos se realizaron con grupos de diez individuos, al final de cada ensayo fueron medidos, se calculó la longitud estándar media del grupo (Lst) y su desviación

estándar (DE). En total se emplearon 150 ejemplares de *C. decemmaculatus* y para la comparación entre especies se utilizaron 10 individuos de *P. reticulata* y 10 de *J. lineata*. Se utilizó una temperatura de experimentación (Te) igual a la de aclimatación que fue controlada entre 23,3 y 25,5°C (media= 24,4°C; DE=0,88). Para el tratamiento estadístico se emplearon test de t, análisis de regresión, correlación y ANOVA.

Se utilizaron combustibles sin plomo, marca Shell (a, b, c) y marca YPF (d, e, f), adquiridos en la Ciudad de Buenos Aires en el año 2000. En *C. decemmaculatus* se ensayó en agua corriente (Conductividad= 352 μ S, pH= 6,8 y Salinidad= 0,26 gr/l) con seis combustibles diferentes: a: Nafta super (98 octanos), b: Nafta super (95 octanos), c: Nafta común (85 octanos), d: Nafta de aviación (100-130 octanos), e: Aerokerosene jet A-1, f: Gas oil. Se realizaron experimentos adicionales con nafta común, en agua corriente, para determinar el MC en *J. lineata* y *P. reticulata*. Para el estudio de las variaciones del MC de *C. decemmaculatus* en función de la salinidad con nafta común, se utilizó agua de mar de distintas concentraciones (S= 4,86 a 36,45 gr/l), agua corriente y agua destilada (S= 0,005 gr/l).

RESULTADOS

Los valores de MC obtenidos para *C. decemmaculatus* con distintos combustibles se encuentran en la Tabla 1, las naftas super son las de mayor toxicidad con valores de MC= 1,1 y 1,3 cc/l. Para ésta especie el aerokerosene Jet A-1 y el gas oil presentan la menor toxicidad ya que no se registró

Tabla 1. Resistencia a diversos combustibles en *C. decemmaculatus*. Se indica el Máximo Crítico (MC), la desviación estándar (DE), la concentración máxima alcanzada (CM), la temperatura de experimentación (Te) y la longitud estándar media (Lst) de cada grupo (n= 10).

Combustible	MC (cc/l)	DE	CM (cc/l)	Te (°C)	Lst (mm)
Nafta super (98 octanos)	1,10	0,3162	2,0	23,3	17,91
Nafta super (95 octanos)	1,30	0,2582	1,5	23,5	19,3
Nafta común (85 octanos)	2,35	1,3344	5,0	23,5	19,51
Nafta de aviación (100-130 octanos)	4,15	0,5798	5,5	25,4	20,52
Aerokerosene (Jet A-1)	>7,00		>7,0	24,0	21,02
Gas oil	>7,00		>7,0	25,0	20,28

mortalidad con concentraciones de 7 cc/l. Existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el MC de la nafta super (95 octanos) y el de la nafta común ($t = 2,443$). Adicionalmente, si bien existe una diferencia entre los MC de las naftas super de 98 y 95 octanos, ésta es no significativa ($t = -1,549$, $p > 0,05$). Los porcentajes de mortalidad en función de la concentración para los diversos combustibles se encuentran en la Figura 1.

Los datos de MC con nafta común registrados para *C. decemmaculatus*, *J. lineata* y *P. reticulata* se indican en la Tabla 2, la Figura 2 muestra los respectivos porcentajes de mortalidad en función de la concentración del combustible. No existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los MC de las tres especies estudiadas ($F = 2,088$), pudiéndose

considerar un valor promedio de $MC = 2,82$ cc/l ($DE = 0,431$).

Los ensayos utilizando nafta común en aguas de distintas salinidades indican que, en *C. decemmaculatus*, la toxicidad de éste combustible aumenta con la salinidad. A mayor S le corresponden menores valores de MC (Tabla 3, Figura 3). Con un modelo exponencial de regresión se determinó una relación negativa y significativa ($p < 0,05$) entre el MC y S, respondiendo a la ecuación:

$$MC = e^{(0,850 + S \cdot -0,027)}$$

$$R^2 = 69,85\% (n = 10)$$

El análisis de correlación entre ambas variables también fue significativo ($p < 0,05$), siendo el valor de $r = -0,836$.

LEYENDAS DE LAS FIGURAS

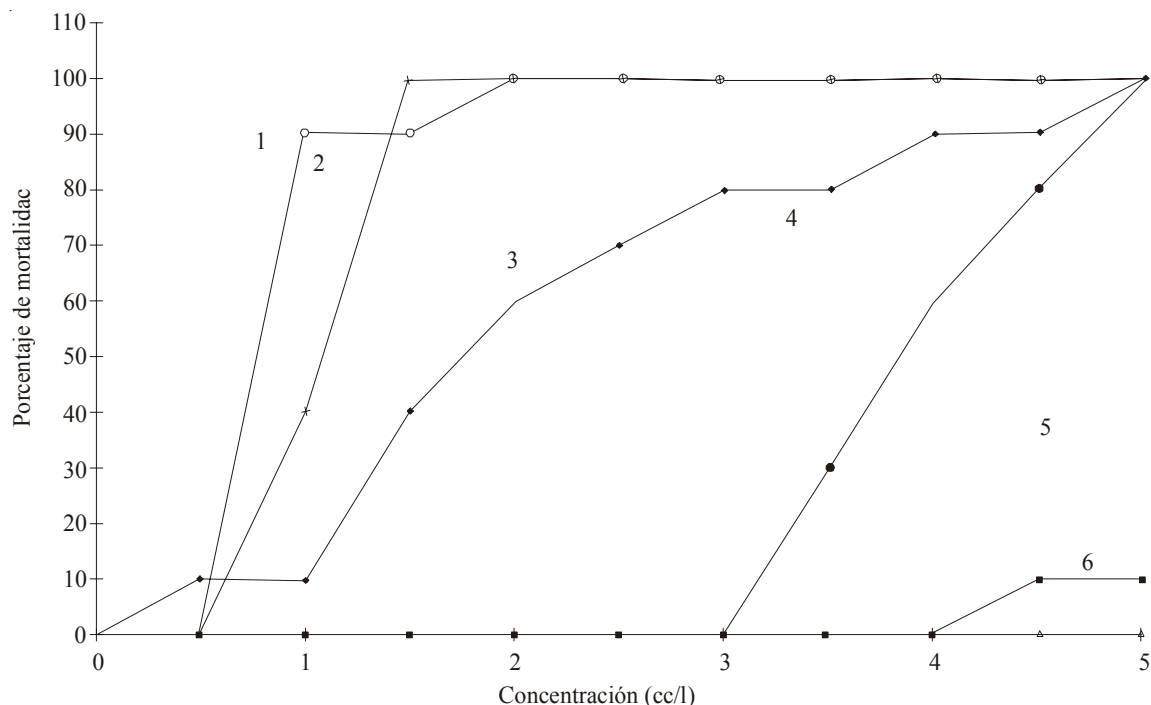


Figura 1. Porcentaje de mortalidad en función de la concentración de distintos combustibles en *Cnesterodon decemmaculatus*.

1: Nafta super (98 octanos), 2: Nafta super (95 octanos), 3: Nafta común sin plomo (85 octanos), 4: Nafta de aviación (100-130 octanos), 5: Aerokerosene, 6: Gas oil.

Tabla 2. Máximo Crítico (MC) y desviación estándar (DE) para individuos de *C. decemmaculatus*, *J. lineata* y *P. reticulata*, expuestos a nafta común sin plomo (85 octanos). Se indica la concentración máxima alcanzada (CM), la temperatura de experimentación (Te) y la longitud estándar media (Lst) de cada grupo (n= 10).

Especie	MC(cc/l)	DE	CM(cc/l)	Te(°C)	Lst (mm)
<i>C. decemmaculatus</i>	2,35	1,3344	5,0	23,5	19,51
<i>J. lineata</i>	3,20	0,8233	4,5	24,6	20,29
<i>P. reticulata</i>	2,90	0,4595	4,0	25,5	14,48

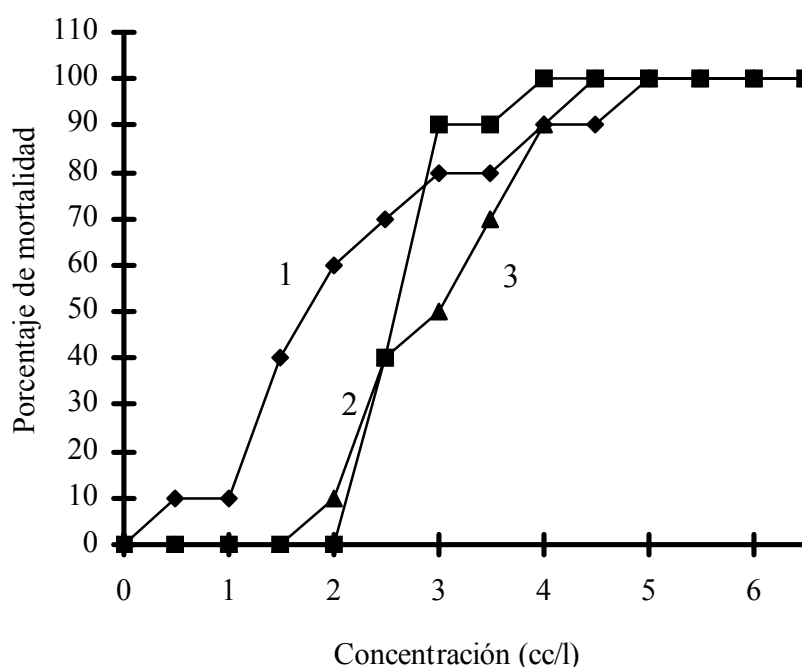


Figura 2. Porcentaje de mortalidad en función de la concentración de nafta común sin plomo (85 octanos) en 1: *Cnesterodon decemmaculatus*, 2: *Poecilia reticulata*, 3: *Jenynsia lineata*.

DISCUSION

Los combustibles aquí utilizados son mezclas de hidrocarburos productos de la destilación del petróleo, más el agregado de un compuesto antidetonante, y se caracterizan por su temperatura de destilación y su índice de octanos. Con los resultados obtenidos, la toxicidad de los distintos combustibles en *C. decemmaculatus* no puede

atribuirse directamente a la distinta cantidad de octanos de los mismos (Tabla 1). La toxicidad parece estar relacionada con las proporciones relativas de las fracciones volátiles, insolubles y solubles en agua, de cada uno de los combustibles. Un combustible con una alta fracción volátil, como el aerokerosene, presenta una muy baja toxicidad. Paralelamente otro combustible con una muy baja fracción soluble como es el gas oil, también presenta baja toxicidad.

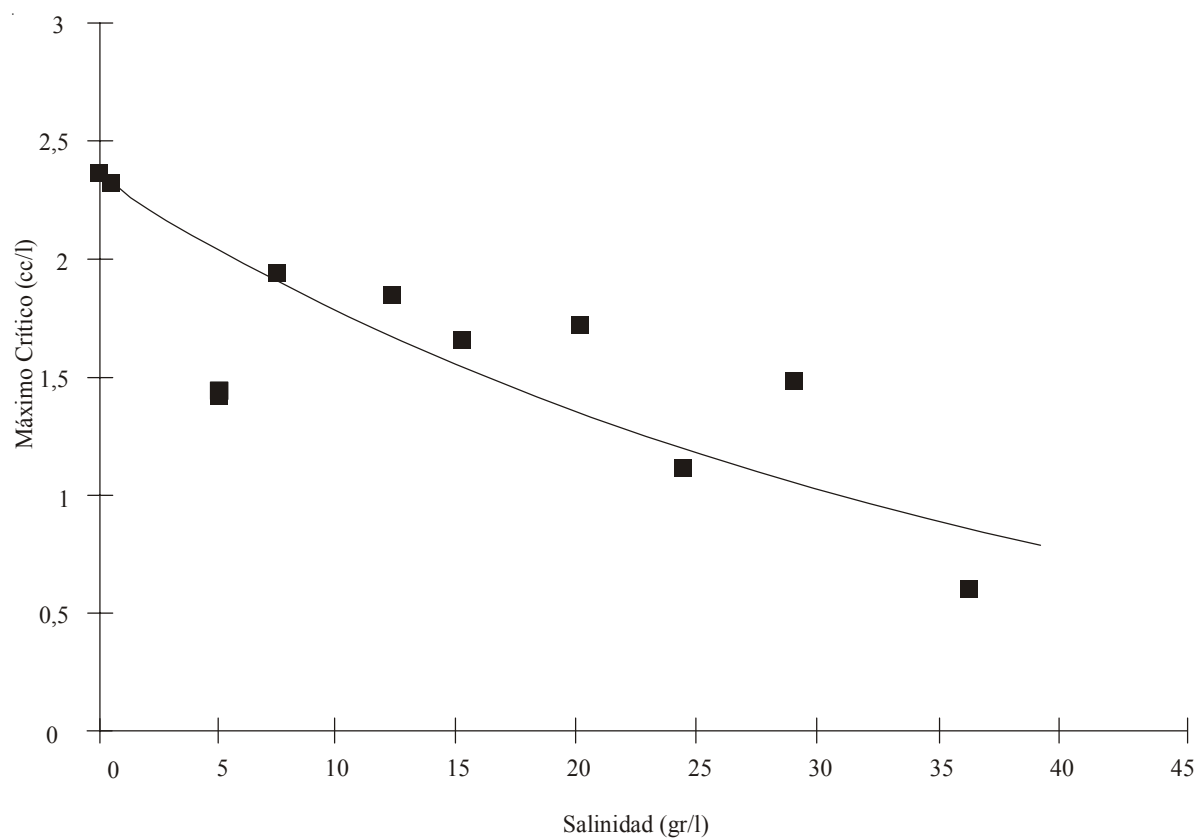


Figura 3. Máximo Crítico en función de la salinidad, en *Cnesterodon decemmaculatus*, utilizando nafta común sin plomo 85 octanos (ver ecuación en el texto).

Tabla 3. Máximo Crítico (MC) y desviación estándar (DE) para ejemplares de *C. decemmaculatus* expuestos a nafta común sin plomo (85 octanos) a distintas salinidades (S en gr/l; * agua destilada, ** agua corriente). Se indica además la concentración máxima alcanzada (CM), la temperatura de experimentación (Te) y la longitud estándar media (Lst) de cada grupo (n= 10).

S(gr/l)	MC(cc/l)	DE	CM(cc/l)	Te(°C)	Lst(mm)
0,005*	2,40	0,8433	4,0	25,5	21,79
0,26**	2,35	1,3344	5,0	23,5	19,51
4,86	1,45	0,5986	3,0	25,1	19,11
7,29	1,95	0,4378	2,5	23,3	19,62
12,15	1,85	1,1068	4,5	23,6	19,38
15,00	1,65	0,2415	2,0	25,4	19,25
20,00	1,70	0,4830	2,5	25,2	20,61
24,30	1,10	0,2108	1,5	25,0	19,20
29,00	1,50	0,2357	2,0	23,3	19,11
36,45	0,60	0,2108	1,0	24,6	18,94

Se destaca que las naftas super, comercializadas con el nombre de “ecológicas”, tengan mayor toxicidad que la nafta común. Posiblemente esto se deba a los distintos compuestos que se utilizan como antidetonante. En el caso de la nafta común los resultados obtenidos para *C. decemmaculatus* son comparables con los de otros dos Cyprinodontiformes, *J. lineata* y *P. reticulata* utilizados en los bioensayos de este trabajo.

Se ha señalado para *Poecilia reticulata*, que el combustible más tóxico es la nafta especial con plomo, seguida por nafta especial sin plomo, y nafta común, siendo el gas oil el menos tóxico (CASSARA *et al.*, 1999), y este orden de toxicidad es congruente con el señalado en el presente trabajo para *C. decemmaculatus*. Además la toxicidad de la nafta común con plomo en *Poecilia reticulata* indicada por CASSARA *et al.* (*op.cit.*) es significativamente menor que la aquí señalada; las naftas actualmente en la Argentina no contienen plomo, a fines de 1999 el plomo o derivados fueron reemplazado por otros compuestos como antidetonante.

Cnesterodon decemmaculatus es un pez eurihalino, se lo ha registrado en localidades donde la salinidad alcanza hasta 9 gr/l; en laboratorio su valor de salinidad máxima tolerable es de 16,9 gr/l (GOMEZ, 1996). Un derrame de combustible de la misma magnitud tiene distinto impacto ambiental dependiendo del tipo de combustible y del lugar donde ocurra, dado que el efecto letal es mayor en aguas con mayor concentración salina. En aguas de distintas salinidades, para compensar la deshidratación el animal debe ingerir agua y alterar su permeabilidad branquial. De ésta manera los tóxicos se incorporarían más rápidamente produciendo máximos críticos menores, lo que implica una mayor toxicidad.

Con la integración del MERCOSUR firmado en 1991, y de concretarse el proyecto “Hidrovia” que involucra cinco países, el tránsito de buques y barcas en la vía fluvial Paraguay Paraná Plata se incrementará notablemente, siendo la contaminación por hidrocarburos uno de los efectos negativos pronosticados (BUCHER *et al.*, 1993). El conjunto de las características de *Cnesterodon decemmaculatus* posibilitan su uso como bioindicador en una extensa región. Los valores letales obtenidos servirán para

evaluar e inspeccionar derrames, a los fines de pronósticos y determinación de impacto ambiental. Adicionalmente es de interés generar datos comparativos con otros Cyprinodontiformes que son normalmente usados como indicadores biológicos y en programas de monitoreo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a R. A. Ferriz y M. G. Quintana (MACN) por la lectura crítica del primer manuscrito. Este trabajo fue parcialmente financiado por el PIP-CONICET N° 4738/97 y la Fundación Pablo Cassará a quienes se les agradece el apoyo.

BIBLIOGRAFIA

- BECKER C.D. & GENOWAY R.G. 1979. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. *Env. Biol. Fish* 4(3):245-246.
- BUCHER E.H., BONETTO A.A., BOYLE T., CANEVARI P., CASTRO G., HUSZAR P. y STONE T. 1993. *Hidrovia. Un examen ambiental inicial de la vía fluvial Paraguay-Paraná*. Humedales para las Américas, Manomet, Massachussets, USA y Bs. As., Argentina: 74 pp.
- CASSARA C., GOMEZ S.E., GIUSTO A., FERRIZ R.A. y ASIKIAN V. 1999. Resistencia a diversos tóxicos y anestésicos en *Poecilia reticulata* Peters, 1859. *Bioikos*, 13 (1/2):29-39.
- COPPOLA A. 1994. Contaminación acuática por hidrocarburos. *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, 224(2): 35-42.
- DAS P.K.M.N. & KONAR S.K. 1988. Acute toxicity of petroleum products, crude oil and oil refinery effluent on plankton, benthic invertebrates and fish. *Environ. Ecol.* 6(4): 885-891.
- DE LA TORRE F.R., DEMICHELIS S.O., FERRARI L. & SALIBIAN A. 1997. Toxicity of Reconquista river water: bioassays with juvenile *Cnesterodon decemmaculatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58:558-565.
- DE LA TORRE F.R., FERRARI L. & SALIBIAN A. 2002. Freshwater pollution biomarker: response of brain acetylcholinesterase activity in two fish species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 131 C (3): 271-280.
- GARCIA M.E, DEMICHELIS S.O, DE LA TORRE F.R. & FERRARI L. 1998. Freshwater toxicity to *Cnesterodon*

- sp*: bioassays with water from the Reconquista River. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 26:1216-1218.
- GIUSTO A., GOMEZ S.E., CASSARA C. y FERRIZ R.A. 1998. Resistencia a la temperatura y salinidad en *Poecilia reticulata* Peters, 1859. *Bioikos*, 12(2):45-52.
- GOMEZ S.E. 1996. Resistencia alla temperatura e salinitá in pesci della Provincia di Buenos Aires (Argentina), con implicazioni zoogeografiche. En: *Atti Congressuali, IV Convegno Nazionale Associazione Italiana Icttiologi Acque Dolci*, Trento, Italia (1991):171:192.
- GOMEZ S.E. y TORESANI N.I. 1998. Las Pampas. En: *Los Humedales de la Argentina*. (Cap. 3:97-113) Canevari P., D. Blanco, E. Bucher, G. Castro y Y. Davison (eds.), Wetlands International, Publ. 46, Buenos Aires, 208 pp.
- HEATH, A.G. 1995. *Water pollution and fish physiology*. Second edition. Lewis Publishers, Florida, 359 pp.
- JONES J.R.E. 1964. *Fish and river pollution*. Butterworth Inc., Washington. 203 pp.
- JOHNSTON R. 1977. What north sea oil might cost fisheries. *Rapp. P. -v. Réun. Cons. Int. Explor. Mer.*, 171: 212-223.
- LOCKHART W.L., METNER D.A., MURRAY D.A.J. & MUIR D.C.G. 1987. Hydrocarbons and complaints about fish quality in the Mackenzie River, Northwest Territories, Canada. *Water Pollution Research Journal of Canada*, 22(4):616-628.
- MACKIE P.R., MCGILL A.S. & HARDY R. 1972. Diesel oil contamination of brown trout (*Salmo trutta*). *Environmental Pollution*, 3(1):9-16.
- PALADINO F.V., SPOTILA J.R., SCHUBAUER J.P. & KOWALSKI K.T. 1980. The critical thermal maximum: a technique used to elucidate physiological stress and adaptation in fishes. *Rev. Can. Biol.* 39:115-122.
- RAVINDRAN K. 1988. Effect of petroleum hydrocarbon toluene on some oxidoreductase systems of freshwater fish *Tilapia mossambica*. *Environ. Ecol.* 6(3): 705-708.
- RINGUELET R.A. 1967. Contaminación o polución del ambiente acuático con referencia especial a la que afecta el área Platense. *Agro.* 9(15):5-33.
- RINGUELET R.A. 1971. La polución o contaminación de origen industrial del Delta Bonaerense. *Trab. Téc. Dir. de Recursos Pesqueros Pcia. de Buenos Aires (M.A.A)*, 1: 1-41.
- RINGUELET R.A., ARAMBURU R.H. y ALONSO DE ARAMBURU A. 1967. *Los peces Argentinos de agua dulce*. CIC, La Plata, 622 pp.
- VILLAR C.A., GOMEZ S.E & BENTOS C.A. 2000. Lethal concentration of Cooper in the neotropical fish *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces, Cyprinodontiformes). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65(4):465-469.