

Evaluación ecotóxica de aguas subterráneas utilizadas para el consumo humano en Cuba

ECOTOXIC EVALUATION OF GROUNDWATER USED FOR HUMAN CONSUMPTION IN CUBA

Dainelys CANTERO BARROSO¹, Liumar PÉREZ GARCÍA², Anisleidy PÉREZ CASTILLO¹, Asela M. del PUERTO RODRÍGUEZ^{3*}

¹ Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Laboratorio de Microbiología, La Habana, Cuba. Correo-e: dainelys@inhem.sld.cu

² Centro Nacional de Toxicología, Subdirección de Estudios de Toxicología y Medio Ambiente, La Habana, Cuba.

³ Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Evaluación de Riesgo, La Habana, Cuba.

RESUMEN

El creciente desarrollo económico y demográfico ha traído aumento en las emisiones de diferentes xenobióticos o sustancias contaminantes al medio ambiente. La calidad y cantidad del agua subterránea está influenciada por la geografía, el clima y la actividad humana. En Cuba muchas de las aguas subterráneas son utilizadas para el consumo humano por lo que es necesario controlar los peligros potenciales de contaminación, para la salud de los ecosistemas, el hombre y la sostenibilidad. El desarrollo agropecuario, industrial y la explotación de yacimientos minerales pueden ser causa de contaminación. Para definir si estas aguas provocan efectos negativos sobre los ecosistemas y están aptas para el consumo, se realizaron ensayos de toxicidad aguda utilizando biomodelos de los ecosistemas terrestres: *Lactuca sativa* y *Eisenia andrei* y acuático: *Poecilia reticulata* y *Osteopilus septentrionalis*. En la fitotoxicidad con semillas de lechuga no se detectó efecto letal (germinación de la semilla) y si efecto sub-letal (inhibición de la elongación de la raíz). En los ensayos de toxicidad aguda con peces, anuros y lombrices no hubo efecto tóxico por la ausencia de mortalidad, cambios morfológicos y conductuales. Concluimos que hay efecto tóxico sobre el crecimiento de la raíz de la lechuga inducido por las aguas subterráneas.

Palabras clave: Biomodelos, fitotoxicidad, *Lactuca sativa*, *Eisenia andrei*, *Poecilia reticulata*, *Osteopilus septentrionalis*,

ABSTRACT

The growing economic and demographic development has brought an increase in the emissions of different xenobiotics or polluting substances to the environment. The quality and quantity of groundwater is influenced by geography, climate and human activity. In Cuba, many of the groundwater is used for human consumption, which is why it is necessary to control the potential hazards of contamination, for the health of ecosystems, man and sustainability. Agricultural and industrial development and the exploitation of mineral deposits can cause pollution. To determine if these waters cause negative effects on ecosystems and are suitable for consumption, acute toxicity tests were conducted using biomodels from terrestrial ecosystems: *Lactuca sativa* y *Eisenia andrei* and aquatic: *Poecilia reticulata* y *Osteopilus septentrionalis*. In phytotoxicity with lettuce seeds, no lethal effect (germination of the seed) and sub-lethal effect (inhibition of root elongation) was detected. In acute toxicity trials with fish, anurans and earthworms there was no toxic effect due to the absence of mortality, morphological and behavioral changes. We conclude that there is a toxic effect on the growth of lettuce root induced by groundwater.

Keywords: Biomodels, phytotoxicity, *Lactuca sativa*, *Eisenia andrei*, *Poecilia reticulata*, *Osteopilus septentrionalis*,

INTRODUCCIÓN

Desde el surgimiento de la especie humana hasta la actualidad el hombre ha mantenido una estrecha relación con la naturaleza para satisfacer sus necesidades, que se fue desarrollando desde la total dependencia hasta una posición de poder sobre la misma. Según se desarrolló esta relación, el hombre fue aprendiendo a usar los elementos naturales como instrumentos. En este momento de la historia nació la tecnología y con ella apareció y evolucionó la civilización humana (Niel, 2009). La población mundial continúa en aumento, lo que implica un incremento de las materias primas, emisión y consumo de energía, de productos finales y de desechos, en los que existen sustancias tóxicas. Este ascenso ha provocado alteraciones en la Tierra, cambios climáticos desfavorables como destrucción de la capa de ozono, la lluvia ácida, temblores de tierra, huracanes, desertificación entre otros, pérdida de especies animal, vegetal y otras que se encuentran en peligro de extinción, lo que constituye una amenaza a la biodiversidad y a los ecosistemas (Niel, 2009).

El agua es una de las sustancias más difundidas y abundantes en el planeta tierra. La calidad y la cantidad procedente de fuentes de aguas superficiales y subterráneas, se ve influenciada por la geografía, el clima y las actividades humanas (Castillo, 2004). Es por ello, que en la actualidad la vigilancia epidemiológica, la determinación de contaminantes y la evaluación ecotoxicológica del agua se hace cada vez más necesaria, debido a la importancia que esta tiene para la salud humana, animal y vegetal como fuente de transmisión de agente etiológico productor de enfermedades y contaminación ambiental (Norma Mexicana 1998; NC: 827: 2012). En este sentido las entidades regulatorias como la Agencia de Protección Medioambiental (EPA) y la Organización Económica de Cooperación y Desarrollo (OECD), han desarrollado y establecido guías que regulan la estimación del potencial ecotoxicológico de los xenobióticos para predecir la respuesta de los receptores ambientales y disminuir la incertidumbre respecto a la exposición, las mismas recomiendan la realización de estudios que evalúen el efecto de contaminantes sobre los compartimientos ambientales.

La contaminación sobre los diferentes compartimientos ambientales es uno de los fenómenos más perjudiciales a los que se enfrentan los ecosistemas. Los contaminantes presentan tres vías fundamentales para su entrada al medio ambiente: el aire, el agua y el suelo. Cada compartimiento ambiental presenta características específicas y por ende los organismos conocidos como especies bioindicadoras (biomodelos) utilizados para la estimación de riesgo tóxico, son representativos de cada uno de ellos (Staalén, 1998; ONU, 2007).

En nuestro país se dan una serie de condiciones favorables para el incremento de la contaminación,

debido a que somos un país en desarrollo y crecimiento demográfico. Este aumento poblacional conlleva a una alta demanda de agua para el consumo, por lo que ha sido necesaria la búsqueda de alternativas de nuevas fuentes, en este sentido se han utilizado las aguas subterráneas como fuentes de abasto. Dentro de los ecosistemas, el medio acuático es uno de los más expuestos a los contaminantes, por ser el receptor final de las descargas que ingresan vía terrestre, acuática o atmosférica (Norville, 2005). Debido a los efectos negativos de los diferentes xenobióticos en el medio ambiente, causado por el uso irracional de plaguicidas y fertilizantes, la disposición inadecuada de los desechos, el incorrecto tratamiento de los residuales sólidos y líquidos sobre el medioambiente, la industrialización, los cambios climáticos desfavorables y la necesidad de nuestro país de un desarrollo sostenible, se hace oportuna la evaluación de estas aguas para determinar si inducen efectos ecotóxico en biomodelos del ecosistema terrestre y acuático.

Entre las provincias más industrializadas y de interés para las autoridades cubanas se encuentra Matanzas, que cuenta con abundantes recursos naturales que han sido la base de su desarrollo socioeconómico. A pesar de la gran diversidad económica, sigue siendo la agricultura la actividad más extendida, del total de 14 municipios, 11 dedican la mayor parte de sus tierras al desarrollo de la actividad agropecuaria y agroindustrial (Romero y Del Puerto, 2013; ONEI, 2014). Se explotan los recursos gaseo-petrolíferos mayores del país, así como los yacimientos minerales no metálicos y los fangos mineromedicinales. La actividad industrial está mayormente concentrada en el municipio de Matanzas en la rama químico-energética (Alfonso *et al.*, 2010).

MATERIAL Y MÉTODOS

Condiciones del muestreo, identificación del grupo experimental, y controles

Estudio ecológico de comparación múltiple en 5 fuentes de abasto de aguas subterráneas (Bello, el Conde, San Juan, Camilito y Canimar) de la ciudad de Matanzas, en el año 2014. Las muestras fueron recolectadas en frascos de 50 ml para el ensayo de fitotoxicidad y de 5 litros para los ensayos toxicológicos. En el punto de captación de la fuente, se dejó bombear el agua durante 5 minutos antes de la recolección de la muestra, se transportaron en neveras refrigeradas hasta los laboratorios del INHEM y CENATOX-SETMA (Centro Nacional de Toxicología – Subdirección de Estudios de Toxicología y Medio Ambiente), donde fueron procesadas inmediatamente. Los laboratorios cuentan con el equipamiento necesario para mantener condiciones ambientales adecuadas, cumpliendo con la regulación de las Buenas Prácticas de Laboratorio establecidos al respecto (MINSAP, 2004). Cada fuente en estudio se consideró un grupo experimental. Como control

positivo se empleó el cloruro de potasio al 0.5 %, sustancia química capaz de inducir efectos negativos en la germinación y elongación de la raíz del vegetal, demostrado por las cartas control de repetibilidad y reproducibilidad del laboratorio de toxicología del INHEM, y para el control negativo agua destilada estéril en el ensayo de fitotoxicidad. Para los ensayos de toxicidad aguda con peces, anuros y lombriz de tierra se utilizó como grupo control, agua potable envejecida de más de 8 días del estanque del área de cría y mantenimiento de biomodelos para la evaluación ecotoxicológica. Esta agua es monitoreada en el laboratorio de Sistema Crítico de la Dirección de Control de Calidad del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB). Donde los parámetros de pH, temperatura, O₂, Ca, dureza total, NO₂, NO₃, NH₄, PO₄, CO₂, H₂S, CL, y coliformes, se encontraban dentro de los valores admisibles establecidos por el CIGB para estas especies.

Organismos de ensayo

Las semillas de lechuga variedad BSS se compraron en el Centro Provincial de Semillas de la Ciudad de Cienfuegos debido a su gran porcentaje de germinación, previamente comprobado en el Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, lugar donde se realizaron la determinación de fitotoxicidad.

Los anélidos, renacuajos y alevines empleados en el estudio fueron obtenidos del sistema de cultivo del área de cría y mantenimiento del SETMA, mantenidos en condiciones controladas en el laboratorio y con la calidad requerida para este tipo de pruebas. Durante el estudio fueron monitoreadas las condiciones ambientales del local de ensayo (temperatura y humedad relativa) así como la temperatura y el pH de la sustancia de ensayo, estando dichos valores en el rango establecido en las guías para la realización de estos estudios (MINSAP, 2004).

Ensayo de fitotoxicidad

Se realizó siguiendo la regulación OECD N° 208,1984 (OECD, 1984), mediante el empleo del bioensayo de la inhibición de la prolongación de la raíz del vegetal, propuesta por Dutka en 1989. Se emplearon, semillas de *Lactuca sativa L.* variedad BSS (*Black Seed Simpson*, variedad de invierno) utilizada en los cultivos cubanos, las cuales se seleccionaron con similares dimensiones por observación directa. Las semillas se conservaron en placas de Petri en refrigeración (4°C), en oscuridad y ambiente seco.

Condiciones recomendadas para las pruebas de toxicidad aguda con *Lactuca sativa L.*: Es un ensayo estático, donde se seleccionaron 20 semillas por placa de Petri con papel de filtro, las cuales se colocaron en 5 filas de 4 semillas cada una. Se satura el papel de filtro Whatman No. 3, con 4 mL de la muestra evitando que se formen bolsas de aire. Las placas se incubaron en la oscuridad a 22 ± 2 °C por 120 horas (5 días). Se

montó por duplicado el ensayo en cada grupo experimental. Después de la incubación, se anotó el número total de semillas que germinaron y se midió la elongación de la radícula en cm. La toxicidad de las muestras se evaluó mediante el porcentaje de semillas germinadas con relación al control (efecto letal) y la medición de la inhibición de la elongación de la raíz (efecto sub-letales).

Efecto Letal: Se determinó la toxicidad medida por el porcentaje de semillas germinadas con relación al control negativo de la siguiente forma; no tóxicas (más del 90 % de semillas germinadas con relación al control), tóxicas (valores entre 75 - 90 % de germinación) y muy tóxicas (valores menores del 75 % de germinación con respecto al control). Efecto subletal: El porcentaje de inhibición (PI) de la elongación de la raíz, se obtuvo mediante la fórmula (Dutka, 1989):

$$\frac{\text{Media (muestra)} - \text{Media (control)}}{\text{Media (control)}} \times 100$$

donde un valor en negativo se interpreta como tóxico, valores positivos como estimulación del crecimiento y 0 como no tóxico.

Condiciones experimentales: Es un ensayo de toxicidad aguda estático con alevines y renacuajos, con una duración de 96 horas, la carga es de un 1g de pez o renacuajo/litro de solución, con fotoperíodo de 12 horas luz por 12 horas oscuridad y Temperatura: 21 ± 2 °C. La concentración de oxígeno, no menos que el 60 % del valor de saturación, sin alimentación, se adicionaron 10 organismos por recipiente de ensayo y dos réplicas de cada grupo experimental con 2 L de sustancia de ensayo. Buenas condiciones de aireación y conexión eléctrica. Se realizaron observaciones en busca de signos de toxicidad a las 0, 24, 48, 72, 96 horas (h). Los signos de toxicidad evaluados fueron mortalidad, pérdida del equilibrio, cambio en la natación (natación errática), manchas o cambios de color, cambio en el comportamiento, afectaciones en la función respiratoria, pérdida de reflejos, excesiva producción de mucosidades, ojos opacos, arqueamiento de espina dorsal, muda de la piel, excesiva producción de mucosidades, hemorragia, muda de la piel, canibalismo (signos de letalidad).

Ensayo de toxicidad aguda con lombriz de tierra: *Eisenia andrei*

Este ensayo se realizó siguiendo la regulación: OECD.207, 1984. *Guideline for testing of chemicals earthworm, acute toxicity tests* (OECD 207, 1984).

Condiciones experimentales: Para el ensayo en lombrices se tuvo en cuenta las siguientes condiciones generales: Temperatura de 19 ± 2° C, sin iluminación, los tubos de prueba fueron de vidrio de 9 cm de largo y 3cm de ancho, con una exposición a discos de papel Whatman No. 1 con un área de 58.5 cm² embebidos en la sustancia de ensayo. Edad de los organismos de prueba: mayores de 2 meses y un peso de 350-450 mg

Tabla 1. Ensayo de fitotoxicidad con semillas de Lechuga. Porcentaje de germinación y elongación de la raíz (PI).

Fuentes de Abasto	Efecto letal		Efecto subletal	
	Número de semillas germinadas	(%) - $\geq 90\%$	Media de la elongación de la raíz	(PI)
Bello	40	102%*	1,27 cm	- 52
Conde	40	102%*	1.83 cm	- 31
San Juan	36	92,30%*	1.80 cm	- 32
Canimar	38	97,40%*	1,29 cm	- 51
Camilito	40	102%*	1,31 cm	- 50
Control Positivo	28	71,80%*	0,51 cm	- 80
Control Negativo	39		2,67 cm	

* % con respecto al control negativo. Fuente: Datos obtenidos del laboratorio de Toxicología, INHEM.

Tabla 2. Ensayo de toxicidad aguda por exposición con peces y anuros. Porcentaje de mortalidad obtenida en la evaluación ecotoxicológica de fuentes de abasto de agua en la ciudad de Matanzas, mediante el ensayo de toxicidad aguda con peces y anuros.

Grupo experimental	Mortalidad (%)					
	6 h	24 h	48 h	72 h	96 h	Total
Grupo Control	0	0	0	0	0	0
Bello	0	0	0	0	0	0
Conde	0	0	0	0	0	0
San Juan	0	0	0	0	0	0
Canimar	0	0	0	0	0	0
Camilitos	0	0	0	0	0	0

Fuente: CENATOX/SETMA. Informe 345, 2014.

Tabla 3. Ensayos de toxicidad aguda por exposición con lombriz de tierra. Porcentaje de mortalidad obtenida en la evaluación ecotoxicológica de fuentes de abasto de agua en la ciudad de Matanzas con anélidos.

Grupo experimental	Mortalidad (%)				
	6h	24h	48h	72h	Total
Grupo control	0	0	0	0	0
Bello	0	0	0	0	0
Conde	0	0	1	0	0
San Juan	0	0	0	0	0
Canimar	0	0	0	0	0
Camilitos	0	0	0	0	0

Fuente: CENATOX/SETMA. Informe 345, 2014.

un organismo por tubo y 12 réplicas, sin alimentación. Tipo de ensayo estático sin renovación y 72 h de duración. Los signos de toxicidad evaluados fueron mortalidad y letalidad (inflamación, necrosis y ulceraciones del clitelo, aspecto filiforme, abultamientos y constricciones, pérdida de líquido celómico, ampollas, palidez, deshidratación).

RESULTADOS

En las tablas 1-3 se exponen los resultados de los ensayos de toxicidad.

DISCUSIÓN

Ensayo de fitotoxicidad con semillas de Lechuga

El empleo de la *Lactuca sativa* L. como herramienta ecotoxicológica es ventajoso, por requerirse poco volumen de muestra comparado con otros organismos, por su rápida germinación, facilidad de medición, viabilidad económica, alta sensibilidad a tóxicos, representatividad del nivel trófico y adaptabilidad a las condiciones del laboratorio (Labadie, 2003; Ayes, 2004). Esta especie ha sido recomendada por la EPA, la FDA y por OECD, encontrándose entre una de las más sensibles, en comparación con otras seis especies de semillas de plantas terrestres (OECD 208,1984; EPA, 1996). De igual modo existen múltiples estudios realizados que apoyan esta hipótesis demostrando la sensibilidad que presenta comparada con otras especies de plantas frente a los contaminantes ambientales. Los resultados obtenidos en el ensayo realizado se exponen a continuación en la Tabla 1.

Para el ensayo de fitotoxicidad se comprobó que la media de los valores de los controles negativos se encontraba dentro de la media $\pm 3DS$ de los controles históricos (para la aceptación de los ensayos). Al realizar este análisis, sin arribar a conclusiones definitivas, se observa que las medidas de tendencia central son similares entre los grupos Control Negativo y los grupos experimentales, y difieren del Control Positivo. En cuanto a los estadígrafos de dispersión, para el Índice de % de germinación y la elongación de la raíz, la mayor dispersión de los datos se observa en el grupo Control Positivo.

Al finalizar el ensayo, se obtuvo un porcentaje de germinación mayor del 90 % de las semillas sembradas con respecto al control negativo, el cual fue agua destilada estéril por ser totalmente inocua (libre de microorganismos, minerales, metales o cualquier otra sustancia que pudiera intervenir en el proceso de germinación de las semillas). No hay efecto letal en el biomodelo empleado provocado por las aguas en estudio, para el ensayo de fitotoxicidad. El número de semillas germinadas

(ver Tabla 1) fue mayor que las del control negativo en los grupos experimentales de Bello, el Conde y Camilito. El control positivo tuvo menor número de semillas germinadas, es decir que hubo mayor inhibición del proceso de germinación con respecto al control negativo y resto de grupos experimentales, lo cual le da validez a nuestro ensayo.

El efecto subletal en este ensayo de fitotoxicidad se mide por la elongación de la raíz y correcto desarrollo de la misma (ausencia de malformaciones), este último parámetro no evaluado en nuestro estudio. La Tabla 1 muestra que hubo mayor crecimiento radicular (medido en cm) en el control negativo que en el de los grupos experimentales y una disminución considerable en el crecimiento del control positivo como valor promedio, resultados de controles que validan nuestro ensayo. Entre los grupos en estudio el menor crecimiento lo reportó la fuente Bello con 1,27 cm como media de las 40 semillas germinadas y el mayor crecimiento la fuente Conde con 1,83 cm, valores que se diferencian significativamente de los reportados por el control negativo con 0,51 cm y control positivo 2,67 cm. Los valores en negativo, obtenidos del cálculo del PI referido en materiales y métodos, se interpretan como toxicidad para el efecto sub-letal, el mismo se evidencia en los 5 grupos experimentales (fuentes de aguas subterráneas en estudio), como nuestra la Tabla 1. Estos resultados evidencian que la elongación radicular es el parámetro más sensible, la cual tiene una estrecha relación con la estructura y función de los vegetales. La raíz es el órgano del aparato vegetativo de las plantas generalmente subterráneo, que tiene su origen en la radícula del embrión, durante los primeros días de la germinación se produce un proceso de alargamiento de la radícula la cual facilitan la absorción del agua y sales minerales del suelo. Como todo ser vivo, los vegetales funcionan como un todo único, de modo que la radícula al ser la primera en tener contacto con los contaminantes, es la más afectada, implicando esto una repercusión negativa para el desarrollo saludable de la planta ya que se ven afectados procesos vitales que mantienen un equilibrio en el suministro constantes de nutrientes a las plantas aun cuando éstos tengan concentraciones muy bajas (Martín, 2014). Corroborándose a su vez con lo planteado por Dutka, 1989 donde refiere que la prolongación de la raíz es inhibida a concentraciones más bajas de las sustancias tóxicas que para el caso de la germinación de las semillas; por lo tanto, puede ser un indicador más sensible de efectos biológicos (Dutka, 1989).

Un estudio con diferentes concentraciones de xenobiótico realizado por Sobrero y Ronco (2004), permitió conocer que al analizar el comportamiento de los parámetros de crecimiento referidos a la longitud de radícula e hipocotílo, se observó que el mínimo crecimiento estuvo en la dilución del 10 % (la mayor concentración), siendo la radicular el más afectado con valor promedio de 8 mm con respecto al control negativo (29.20 mm); y en el caso del hipocotílo fue

de 13.98 mm con respecto al máximo crecimiento presentado por el grupo control (17.37 mm) (Sobrero y Ronco, 2004). En los resultados del porcentaje de inhibición de la elongación de la radícula e hipocotílo con respecto al control negativo se observa que el efecto del residual a través de los tres puntos finales medidos aumenta. El autor concluye que los efectos sub-letales encontrados a partir de la concentración del 0,1 % hasta el 10 %, pudieran estar referidos a la presencia de determinados componentes de la mezcla o de la interacción entre ellos que están presentes en concentraciones tan bajas, que actúan inhibiendo el desarrollo normal de las estructuras de crecimiento de las plántulas expuestas, aun cuando ha ocurrido inicialmente el proceso de germinación de las semillas. Resultados que corresponden con los encontrados en mi evaluación fitotóxica.

Este desarrollo inadecuado de la elongación de la raíz del vegetal en cuestión puede influir en el crecimiento normal y la estética del mismo, lo cual genera consecuencias negativas en su posterior comercialización e implicación o afectación económica.

Los efectos subletales tienen una importancia vital en ecotoxicología ya que, aunque no causan mortalidad directamente, afectan las posibilidades de supervivencia del individuo en el medio natural. El desarrollo de diferentes tipos de pruebas que utilizan concentraciones relevantes desde el punto de vista ambiental y seleccionan, mediante estudios más complejos, respuestas sub-letales más sensibles que la mortalidad, es esencial para determinar el impacto realmente producido por los contaminantes (Hernández, 2014).

Ensayo de toxicidad aguda por exposición con peces y anuros

En ecotoxicología abundan más los ensayos con organismos acuáticos dado que la mayor parte de los contaminantes se encuentran eventualmente en el agua, por lo que los sistemas acuáticos se utilizan como primera indicación de los efectos ambientales de las sustancias químicas (Pérez *et al.*, 2001). La mayoría de las autoridades reguladoras requieren pruebas de toxicidad aguda en medio acuático para el análisis de seguridad de una sustancia utilizando diversos organismos como: microalgas, plantas acuáticas, invertebrados y vertebrados acuáticos (FAO, 1981).

Desde un punto de vista socio-económico, el medio acuático representa, sin lugar a dudas, un factor importante para la prosperidad económica, el bienestar social y la calidad de vida; por este motivo su contaminación es uno de los problemas al que se le presta mayor atención en muchos países.

En los grupos experimentales del ensayo con alevines de la especie *Poecilia reticulata* y renacuajos de la especie *Osteopilus septentrionalis*, no se registró mortalidad (efecto letal) ni otros signos (cambios morfológicos, fisiológicos y conductuales conocidos como efectos sub-letales) que evidenciaran toxicidad atribuible al agua proveniente de las fuentes de abasto

investigadas. Por lo que se obtuvo un 100% de sobrevivencia en los peces y anuros expuestos.

Ensayos de toxicidad aguda por exposición con lombriz de tierra

El ensayo de toxicidad aguda con anélidos de la especie *Eisenia andrei* culminó con un 98.61 % de supervivencia, se produjo la muerte de un animal de la réplica 6 de la fuente del Conde, reportada a las 48h. La comparación estadística no mostró diferencias entre grupos en cuanto a la mortalidad ($p = 0.686$). Durante el estudio no se detectaron otras alteraciones clínicas. La muerte de un animal no debe considerarse por sí mismo como un signo de toxicidad. Al no haber diferencia significativa con el grupo Control este ensayo incluye dentro de sus posibilidades la muerte de hasta un 10 % de los animales del grupo Control, y como tal está considerado por la OECD (1984). Esto se apoya además en la ausencia de signos clínicos de toxicidad, dentro de los cuales se consideran para esta especie posibles alteraciones del comportamiento y cambios morfológicos.

Son muchos los estudios reportados en las bibliografías para evaluar contaminación ambiental donde hacen uso de estos biomodelos tan útiles en la evaluación ecotóxica pero casi ninguno con el objetivo de analizar el efecto de las aguas subterráneas utilizada para el consumo humano.

CONCLUSIONES

El signo de fitotoxicidad medido en semillas de lechuga, producido, por las aguas provenientes de fuentes subterráneas, que abastecen la ciudad de Matanzas se midió por dos efectos; letal y sub-letal. Se determinó que no existía efecto letal en ninguna de las fuentes y si toxicidad para el efecto sub-letal en las cinco fuentes estudiadas. No hay toxicidad aguda atribuible a estas fuentes subterráneas en las especies *Poecilia reticulata*, *Osteopilus septentrionalis* y *Esenia endrei*. Recomendamos ampliar el estudio con otras especies biomodelos utilizadas en la evaluación ecotóxica, realizar determinaciones de metales, parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en diferentes épocas del año para estudios comparativos.

BIBLIOGRAFÍA

Alfonso A, Tomas AF, Jorge E, Guerra B, 2010. Desarrollo de una estrategia para monitorear los riesgos medioambientales en cinco provincias del país. Cuba.
Ayes GN, 2004. Desarrollo sostenible y sus retos, La Habana, Ed Científico-Técnica, Colección Divulgación Científica.
Castillo MG, 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de las aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. 1ª ed. Canadá: IDRC; p. 71-79.

Centro Nacional de Toxicología (CENATOX, SETMA). Informe No. 345,2014
Dutka BJ, 1989. Short-Term Root Elongation Toxicity Bioassay Methods for Microbiological and Toxicological. Analysis of Waters Wastewaters and Sediments. Burlington, Ontario: Rivers Research Institute. NWRI; 1989.
Environmental Protection Agency (EPA), 1996. Ecological effects test guidelines OPPTS Fish acute toxicity test, freshwater and marine 850.1075.
FAO, 1981. Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 4Ta. Base para la elección de ensayos biológicos para evaluar la contaminación marina. FAO. Doc. Téc. Pesca 1981; 164: 1-34.
Hernández L, 2014. Trabajo de diploma. Evaluación ecotoxicológica en diferentes bioindicadores ambientales del bioplaguicida Tricosave-34.
Labadie JM, 2003. Monografía de contaminación ambiental. Facultad ingeniería química, 2003, CIPRO Centro de Ingeniería de Procesos. Instituto Superior Politécnico "José A. Echeverría".
Martín F, 2014. Incorporación de nuevos parámetros sub-letales para la evaluación de las consecuencias ambientales de contaminantes orgánicos persistentes y emergentes en las emisiones ligadas a la gestión de residuos. República de Honduras.
MINSAP. Ministerios de Salud Pública, 2004: Principios de las buenas prácticas de laboratorio no clínico de seguridad sanitaria y medioambiental. (Regulación 39/2004). La Habana.
NC: 827: 2012. 2da Edición. Agua Potable. Requisitos Sanitarios. ICS:13.060.20.
Neil A, 2009. Biology concepts & connections (6ª.Ed) Campbell,p.2-3
Norma Oficial Mexicana NOM-180-SSA1-1998.
Norville W, 2005. Spatial distributions of heavy metals in sediments from the Gulf of Paria, Trinidad. Rev. Biol. Trop. 1: 33-40.
OECD No 207. 1984 (Organization for Economic Cooperation and Development) Guideline for testing of chemicals Earthworm, acute toxicity tests, Paris, France.
OECD No 208. 1984(Organization for Economic Cooperation and Development) *Terrestrial Plants: Growth Test. Guideline for Testing of Chemicals*. Paris, France.
ONEI. Anuario Estadístico Provincia de Matanzas 2014.
Organización de las Naciones Unidas. Guía de los peligros para el medio ambiente acuático, 2007.
Pérez G y Colaboradores, 2001. Efectos ecotoxicológicos de un brasino esteroide en tres organismos productores. Acta Farm. Bonaerense 20 (4): 281-7.
Romero M y Del Puerto A, 2013. Nitratos y nitritos en fuentes de aguas subterráneas y su impacto sobre la salud en tres provincias del occidente del país. 2011 – 2013. INHEM.

Sobrero MC y Ronco A, 2004. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L).

Stalen, NM, 1998. Evaluation of biondicador systems derived from soil arthropod communities. *Applied Soil Ecology* 9: 429-437.