

**UNIVERSIDAD NACIONAL “HERMILIO VALDIZÁN”**  
**ESCUELA DE POST GRADO**



---

---

**TOXICIDAD EN AGUAS SUPERFICIALES DE LA  
ESTACIÓN 6 DEL RIO CHILLÓN UTILIZANDO EL  
BIOENSAYO *Lactuca sativa* - 2015**

---

---

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:  
MAGÍSTER EN MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO  
SOSTENIBLE  
MENCIÓN: GESTIÓN AMBIENTAL**

**MÓNICA GUADALUPE RETUERTO FIGUEROA**

**HUÁNUCO - PERÚ  
2015**

## DEDICATORIA

*A Dios, por su infinito amor y bendiciones,  
por la oportunidad de seguir progresando  
en la parte profesional, familiar y personal.*

*A mis queridos padres Alejandro y  
Eugenia por ser mi fortaleza y ejemplo de  
vida.*

*A mis hermanos Pochito. Alexito y  
Alexandra por su cariño.*

*A mis lindos sobrinitos: Angelita,  
Alejandro, Daphne, Nicolás y Sebastián  
por alegrarme la vida.*

**AGRADECIMIENTO**

*Al Doctor Pedro Villavicencio Guardia, asesor por sus valiosos aportes en todas las etapas del presente trabajo.*

*A la Dra. Arilmí Gorriti Gutiérrez y Dra Augusta Córdova, por brindarme en todo momento su cariño y apoyo incondicional en esta investigación.*

*A mis amigas y colegas Dra. Q.F Bertha Jurado, Eva Ramos, Dina Rojas y Carmen Aylas, por su apoyo incondicional en la elaboración de esta investigación.*

*A mis amados padres, Alejandro Retuerto Marcos y Eugenia Figueroa Rojas por sus enseñanzas y participación en la culminación satisfactoria de esta tesis.*

*A mis estimados estudiantes y amigos por su apoyo en el trabajo de campo en especial a Edward, Jossimar, Alex, Julio, Joshep, Miguel, Erick, Milagritos, Romualdo, Diana, Pamela, David, Omar y Ximena. Y a todos que de alguna manera me apoyaron en este proceso de investigación.*

*A mis queridas instituciones: Facultad de Farmacia y Bioquímica, cátedras de Botánica y Farmacognosia y al laboratorio de la Escuela de Ingeniería Ambiental de la Universidad Cesar Vallejo.*

*A los distinguidos miembros del jurado, examinador y evaluador por sus valiosos aportes.*

## RESUMEN

El presente trabajo determinó la **Toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo *Lactuca sativa*** obteniendo el Índice de Toxicidad Moderada a las concentraciones del 100% y 30%, a un nivel de confianza del 95% en los 2 muestreos realizados en el mes de noviembre y diciembre; siendo los de valores más altos los reportados en el 1er. Muestreo: al 100%, el Índice de toxicidad en el intervalo de  $< -0.32 ; -0.25 >$ , a una concentración del 30% fue  $< -0.27 ; -0.20 >$ , las otras fueron de Toxicidad baja. Los parámetros fisicoquímicos in situ en los 2 muestreos estuvieron dentro de los ECAs del agua. El % de inhibición de la radícula en los 2 muestreos fue mayor a la concentración del 100%, disminuyendo a menores concentraciones. Los resultados de %IER a la concentración del 100% fueron de 28,38% y 25,63%, a la concentración del 30% los IER 23,69% y 21,63%, entre los que tuvieron mayor porcentaje de inhibición, ninguno fue mayor del 50%. El % de inhibición del hicocótilo mayor en los 2 muestreos fue a la concentración del 100% y fue disminuyendo a menores concentraciones. Los resultados al 100% fueron de 17,04% y 16,00%, al 30% 13,69% y 15,25%. El porcentaje de germinación fue del 100% en el 1er muestreo en todas las concentraciones y en el 2do. muestreo fue 100% en la concentración de 1%, en las demás concentraciones el porcentaje de germinación fue del 95%. Los efectos fitotóxicos se evidenciaron en los 2 muestreos realizados, determinándose la dependencia de las diferentes concentraciones con el control negativo. Este bioensayo se realizó como una propuesta de análisis alternativo para evaluar la toxicidad de las aguas superficiales de la Estación 6 y que sirva como ejemplo para utilizarlo en la evaluación de toda la cuenca del río Chillón y que pueda ser útil a las autoridades

competentes cuando inspeccionan los efluentes de las diferentes empresas para evaluar el potencial riesgo al cuerpo de agua y a la salud del ecosistema, sin necesidad de equipamiento especializado, ni de infraestructura costosa y que pueda implementarse en las diferentes áreas de las entidades competentes.

**PALABRAS CLAVE:** Toxicidad, *Lactuca sativa*, río Chillón

## ABSTRACT

This paper determines the toxicity in surface waters of the river Chillón Season 6 bioassay using *Lactuca sativa* obtaining the index Moderate concentrations of 100% and 30% toxicity, a confidence level of 95% in the 2 samplings in November and December; It is the highest values reported in the 1st. Sampling: 100%, the index of toxicity in the range of  $<-0.32; -0.25>$  At a concentration of 30% it was  $<-0.27; -0.20>$ , The others were of low toxicity. The physical and chemical parameters in situ in the 2 samples were within the ECAs water. The% inhibition of the radicle in the two samples was greater than 100% concentration, decreasing at lower concentrations. The results of IER% to 100% concentration were 28.38% and 25.63% at the concentration of 30% REI 23.69% and 21.63%, including had higher percent inhibition, none was greater than 50%. The% inhibition of greater hiccótilo in 2 concentration samples was 100% and was decreasing at lower concentrations. The results were 100% and 17.04% 16.00% 30% 13.69% and 15.25%. The percentage of germination was 100% in the 1st sampling at all concentrations and in the 2nd. Sampling was 100% at the concentration of 1%, in other concentrations germination percentage was 95%. Phytotoxic effects were evident in the two samplings, determining the dependence of the different concentrations with the negative control. This bioassay was performed as a proposed alternative analysis to evaluate the toxicity of surface waters Station 6 and serve as an example for use in evaluating all the Chillón river basin and can be useful to the competent authorities when inspected effluents from different companies to assess the potential risk to the body of water and ecosystem health,

without specialized equipment or costly infrastructure and can be implemented in different areas of the competent authorities.

**KEYWORDS:** Toxicity, *Lactuca sativa*, Chillon River

## INTRODUCCIÓN

Mejorar la calidad de agua es responsabilidad de todos y como profesionales debemos brindar herramientas de análisis sencillas y prácticas para que las autoridades competentes puedan implementar estos tipos de análisis para el monitoreo de los cuerpos de aguas y los efluentes de las diferentes empresas y garantizar el cuidado de nuestro recurso máspreciado, el agua.

En el presente trabajo titulado: **TOXICIDAD EN AGUAS SUPERFICIALES DE LA ESTACIÓN 6 DEL RIO CHILLÓN UTILIZANDO EL BIOENSAYO *LACTUCA sativa* - 2015**, para su mejor comprensión y análisis, se ha organizado en cinco capítulos.

El primer capítulo abarca la descripción del problema, antecedentes, teorías básicas y la formulación del mismo (problema general y específicos), los objetivos, las hipótesis y las razones que motivaron la investigación.

El segundo capítulo se ocupa de los materiales utilizados, definiciones conceptuales. En ella se observa la forma cómo se relacionan las variables independiente y dependiente, y se describe: el método, tipo y diseño de investigación; la población y muestra; y, las técnicas e instrumentos utilizados durante el proceso de investigación.

El tercer capítulo comprende los resultados del trabajo de campo con aplicación estadística y la contratación de las hipótesis presentadas.

El cuarto capítulo se presenta la discusión de los resultados con los referentes bibliográficos de las bases teóricas, la confiabilidad de la hipótesis en base a la prueba de hipótesis y el aporte científico de la investigación.



Y finalmente en el quinto capítulo se exponen las conclusiones, se plantea algunas sugerencias, se considera el respectivo listado bibliográfico y se adjuntan ordenadamente los anexos de la presente investigación.

La tesista

## ÍNDICE

DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTO .....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT .....	vi
INTRODUCCIÓN.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS .....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
CAPÍTULO I .....	14
I. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	14
1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA .....	14
1.2 ANTECEDENTES .....	15
1.3 TEÓRIAS BÁSICAS .....	18
1.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	25
1.5 OBJETIVOS .....	25
1.6. HIPÓTESIS .....	26
1.7. VARIABLES:.....	27
1.8. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	28
1.9. VIABILIDAD.....	30
1.10. LIMITACIONES .....	30
CAPÍTULO II .....	31
2.1. MATERIALES Y MÉTODOS .....	31
2.2. DEFINICIONES CONCEPTUALES(22,32–34).....	31
2.6. POBLACIÓN .....	41
RESULTADOS.....	43
CONCLUSIONES.....	65
SUGERENCIAS.....	66
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Fases de formación de la planta(21,22).....	18
Cuadro 2. Criterios para ubicación de punto de muestreo .....	22
Cuadro 3. Índice de Toxicidad.....	27
Cuadro 4. Operacionalización de Variables .....	28
Cuadro 5. Ubicación del punto de muestreo del mes de noviembre.....	35
Cuadro 6. Ubicación del punto de muestreo del mes de diciembre .....	36
Cuadro 7. Mapa de ubicación del punto de muestreo de la Estación 6 del río Chillón .....	37
Cuadro 8. Instrumento N° 02: Registro de datos de campo y parámetros físicoquímicos evaluados.....	43
Cuadro 9. Resultados de la primera prueba CI50 con el Programa Priprobit (Elongación de la radícula).....	44
Cuadro 10. Resultados de la primera prueba CI50 con el Programa Priprobit (Elongación del hipocótilo).....	44
Cuadro 11. Resultados de la primera prueba CI50 con el Programa Priprobit (Elongación de la radícula).....	44
Cuadro 12. Resultados de la primera prueba CI50 con el Programa Priprobit (Elongación del hipocótilo).....	45
Cuadro 13. CI50r y CI50h del control positivo. ....	45
Cuadro 14. Ficha de Registro N°1 del Bioensayo de <i>Lactuca sativa</i> (lechuga americana).....	47
Cuadro 15. Ficha de Registro N°2 del Bioensayo de <i>Lactuca sativa</i> (lechuga americana).....	48
Cuadro 17. Cuadro . Prueba de Normalidad para las mediciones de la raíz del 1er muestreo.....	49
Cuadro 18. Cuadro . Prueba de Homogeneidad de varianzas para las mediciones de la raíz del 1er muestreo.....	50
Cuadro 19. Cuadro . Prueba del ANOVA para las mediciones de la raíz del 1er muestreo.....	50

Cuadro 20. Cuadro . Prueba del Dunnet para las mediciones de la raíz del 1er muestreo.....	51
Cuadro 21. Nivel de Toxicidad de las aguas superficiales de la E61 en el 1er. muestreo.....	52
Cuadro 22. Prueba de Normalidad para las mediciones de la raíz del 2do. muestreo .....	53
Cuadro 23. Prueba de Homogeneidad de varianzas para las mediciones de la raíz del 2do. muestreo	53
Cuadro 24. Prueba del ANOVA para las mediciones de la raíz del 2do. muestreo.....	54
Cuadro 25. Prueba del Dunnet para las mediciones de la raíz del 2do. muestreo .....	54
Cuadro 26. Nivel de Toxicidad de las aguas superficiales de la E61 en el 1er. muestreo .....	55
Cuadro 27. Evaluación de parámetros fisicoquímicos de los 2 muestreos de las E61 .....	55
Cuadro 28. %IER del 1er. y 2do muestreo de aguas E61 .....	57
Cuadro 29. Registro de Porcentajes de inhibición del bioensayo <i>Lactuca sativa</i> para el 2do. muestreo.....	57
Cuadro 30. %IEH del 1er. y 2do muestreo de aguas E61.....	57
Cuadro 31. Registro de Porcentajes de inhibición del bioensayo <i>Lactuca sativa</i> para el 1er muestreo.....	81
Cuadro 32. Registro de Porcentajes de inhibición del bioensayo <i>Lactuca sativa</i> para el 2do. muestreo.....	83

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1. Morfología de la semilla y la plántula de lechuga. ....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 2. Esquema general del procedimiento de prueba de toxicidad con semillas(20).....</b>	<b>20</b>
Figura 3. Esquema de plántula de L. sativa al finalizar el periodo de exposición(20).....	21
<b>Figura 4. Estadios por los que atraviesa la semilla durante el ensayo de germinación y elongación(20). ....</b>	<b>21</b>
<b>Figura 5. Diagrama de flujo de la Recolección de la muestra .....</b>	<b>38</b>
<b>Figura 6. Preparación de las diferentes concentraciones del Sulfato de Zinc.....</b>	<b>39</b>
<b>Figura 7. Placas Petri a diferentes concentraciones del Sulfato de Zinc .....</b>	<b>39</b>
<b>Figura 8. Preparación de las muestras y diluciones.....</b>	<b>39</b>
<b>Figura 9. Acondicionamiento de las placas Petri.....</b>	<b>40</b>
<b>Figura 10. Forma de colocar las semillas .....</b>	<b>40</b>
<b>Figura 11. Resultados del bioensayo de Lactuca sativa a diferentes concentraciones (1er muestreo) .....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 12. Resultados del bioensayo de Lactuca sativa a diferentes concentraciones (2do. muestreo) .....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>

# CAPÍTULO I

## I. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La cuenca del río Chillón está formada por la cuenca alta, media y baja. La cuenca baja se encuentra entre 0 y 800 msnm, desde su desembocadura en el mar hasta el distrito de Carabayllo(1). siendo las aguas superficiales de la cuenca baja del río Chillón donde se encuentra la estación 6, en la que existe presencia de población urbano rural, asentada en el acantilado que se encuentra cerca al cruce con la Panamericana Norte, los cuales muchos de ellos eliminan sus residuos y efluentes directamente al río(1-5).

Según Aliaga(4) (2010) las actividades desarrolladas en las riveras de la Estación 6 son la industria papelera, textil, chancherías clandestinas, plantas de fundición clandestinas, botaderos de curtiembres, lavado de ropa en el río, recicladores informales, talleres mecánicos, etc, usan el agua del río como insumo de sus operaciones y descargan contaminando con metales tóxicos como plomo, zinc, aluminio, cadmio, cromo, sedimentos de celulosa y aguas residuales domésticas afectando la flora y fauna acuática y suelos agrícolas.

La normativa del Perú sólo considera en los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para agua (ECAs) del D.S. N° 002 – 2008 – MINAN(6), la evaluación de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, que resulta insuficiente para la valoración de los efectos potenciales sobre la vida acuática, terrestre y la salud de la población; la mezcla de los tóxicos genera mezclas complejas de difícil análisis y determinación del potencial tóxico de sus contaminantes.

La incorporación de compuestos tóxicos a los ecosistemas acuáticos no solo afecta a sus componentes bióticos, sino que limita además el uso de los recursos acuáticos (consumo humano, recreativo, agrícola, industrial), poniendo incluso en riesgo a la salud humana(7).

Los tóxicos pueden ser bioacumulados en los organismos vivos de los ecosistemas acuáticos y reducen las concentraciones de tóxicos en el agua, pero tienen un alto riesgo de daño al ecosistema(8,9).

En la norma argentina IRAM, 29012, “Guía para el bioensayo de muestras”, se señala que “un efecto nocivo detectado mediante estos ensayos” puede alertar acerca de peligros potenciales sobre los ecosistemas como consecuencia de la exposición a estas sustancias”(10).

Finalmente, el objetivo principal de esta investigación será desarrollar un método de análisis sencillo, eficaz y económico para evaluar la toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo *Lactuca sativa* (lechuga americana).

## 1.2 ANTECEDENTES

### INVESTIGACIONES INTERNACIONALES:

**Rodríguez A., Robles S., Ruíz R., López E., Sedeño J., Rodríguez A. (2014).** En el trabajo de investigación “**Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitoreo de la calidad del agua del río Chalma**”(11). utilizaron el método de fitotoxicidad, el de germinación de semillas y la prueba de la elongación radical, recomendados para el biomonitoreo ambiental en México para el monitoreo de la calidad de agua en los ecosistemas dulceacuícolas. Los objetivos de este trabajo fue evaluar la toxicidad de las aguas del Río Chalma a través de un bioensayo con *Lactuca sativa* y establecer un índice biológico que permita conocer y evaluar las condiciones de contaminación del agua de este río. Eligieron seis sitios de monitoreo representativos a lo largo del cauce, cuatro de ellos ubicados en el Estado de México y dos en el estado de Morelos. Se diferenciaron tres zonas de acuerdo con los índices de toxicidad obtenidos: los tres primeros sitios de estudio presentaron valores positivos y bajos en toxicidad, con altas concentraciones de nutrientes; la parte media representada por el cuarto sitio, obtuvo el índice de elongación radical más bajo (toxicidad moderada) y la parte baja del río, cuyos índices clasificaron a esta zona con toxicidad de moderada a baja. Concluyendo que el bioensayo de germinación de las semillas de *Lactuca sativa* generó respuestas biológicas integradoras.

**González Y, Marcos E, Pérez N, Marín D y Argota G. (2012)**(12), en el estudio “**Aplicación de un bioensayo ecotoxicológico en la evaluación de una mezcla compleja ambiental**”, se evaluó la toxicidad aguda de una mezcla compleja ambiental (Cuba), empleando un ensayo ecotoxicológico

con semillas de *Lactuca sativa* L. (lechuga). Las semillas fueron expuestas a la muestra pura (100 %) y a tres diluciones (0.1, 1 y 10 %). Se obtuvieron los valores de CI<sub>g</sub>50: 52,7 %; CI<sub>r</sub>50: 6,89 %; CI<sub>h</sub>50: 43,0 % de la germinación, la longitud radicular y del hipocótilo respectivamente, que fueron los puntos finales medidos en el ensayo. Se determinó Inhibición de Elongación de raíz e hipocótilo (EI<sub>r</sub>), (EI<sub>h</sub>) como parámetros de crecimiento; siendo el más sensible la longitud radicular. Las anomalías morfológicas más notables encontradas en el sistema apical fueron: hipocótilo corto y grueso, curvado y retorcido; y en el radicular: raíces raquílicas y ausentes, siendo directamente proporcionales al aumento de la concentración de la mezcla en estudio. Con estos resultados se clasificó la muestra ambiental evaluada como tóxica para el biomodelo empleado.

**Torres M. y Hernández N. (2009)**(13). En su investigación “**Determinación toxicológica en aguas de río mediante el empleo de un bioensayo con planta**” han realizado un bioensayo de inhibición de la prolongación de la raíz con *Lactuca sativa* L., en el cual se evaluaron muestras de agua de dos ríos en Ciudad de la Habana. Se realizaron 2 muestreos por punto en cada río (en diferentes fechas) y evaluaron el efecto de diferentes concentraciones (50%, 25%, 10% y 5%) en las muestras analizadas por duplicado, así como la muestra pura, sobre la germinación y el crecimiento radicular de la planta utilizada, con controles positivo (cloruro de sodio) y negativo (agua destilada). Presentándose el fenómeno de hormesis en todas las muestras analizadas. Este bioensayo permitió identificar la toxicidad de muestras de agua de río, complementando la evaluación sanitaria de las mismas.

**Bohórquez-Echeverry P., Campos-Pinilla C.(2007)**(14) en su investigación: “**Evaluación de *Lactuca sativa* y *Selenastrum capricornutum* como indicadores de toxicidad en aguas**”, comparó la sensibilidad de *S. capricornutum* con el ensayo de *Lactuca sativa* para seleccionar el mejor indicador de toxicidad. Determinó la sensibilidad de cada organismo frente a Zn (II) como tóxico de referencia para ambos indicadores obteniéndose para *L. sativa* un valor de CE<sub>50-120h</sub> de 24.48 mgZn(II)/L y para *S. capricornutum* un CE<sub>50-96h</sub> de 0.29 mgCr<sup>+6</sup>/L. Para evaluar la sensibilidad de los indicadores, se seleccionaron dos muestras de agua en el río Bogotá y otra en el efluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales El Salitre. Los resultados



indicaron que ambos modelos presentaron respuestas similares, lo cual podría atribuirse a la concentración de materia orgánica presente en las muestras.

**Poi de Neiff, Alicia -Ramos, Abel O. (2001)(15)**, en su investigación: **“utilización de bioensayos para el estudio ecotoxicológico de los ríos Salado y Negro (Chaco, Argentina)”**, tuvo como objetivo evaluar la toxicidad del agua y de los sedimentos de los ríos Negro y Salado, utilizando como especies diagnósticas *Lactuca sativa* (lechuga) y *Panagrellus redivivus* (nemátodo). Las semillas de *L. sativa*, se utilizaron en los ensayos de toxicidad, después de 96 horas midieron el efecto letal y subletal sobre la germinación y la elongación de la raíz. Los resultados fueron los siguientes: se consideraron no tóxicas a las muestras en las cuales germinaron más del 90% respecto del control con agua destilada, tóxicas a las que presentaban valores comprendidos entre 75% y 90% y muy tóxicas a las que tenían menos del 75% de germinación respecto del control. Si la inhibición de elongación (EI) es 0 indica que la muestra no presenta toxicidad aguda, si da un valor negativo la muestra es considerada tóxica y si registra valores positivos superiores a 0 indican estimulación de la elongación de la raíz. Los resultados de los bioensayos fueron coincidentes utilizando distintas especies para el diagnóstico de toxicidad. Las muestras provenientes de Puerto Tirol resultaron tóxicas en todos los tratamientos.

**Lallana, V.; Elizalde, J.; Lallana, Ma. Del C.; Billard, C.; Meuci, G.; González, R.; Ferreira, T. y Boschetti, G.(16)** en el marco del Proyecto Federal de Innovación Productiva PFIP 2004-1 **“Caracterización ecológica ambiental de represas para riego en Entre Ríos”** evaluaron la calidad de agua de arroyos de la provincia de Entre Ríos en una situación hidrológica de aguas bajas, vinculados a las represas para riego de cultivos. Se tomaron muestras de agua para análisis físicoquímico y para la realización de dos tipos de bioensayos: *Allium* test y germinación de semillas de *Lactuca sativa*. La longitud radicular e índice de germinación, variables registradas en ambos bioensayos, se analizaron mediante la prueba Dunnet. La prueba de *Allium* test fue negativa al igual que el bioensayo de germinación de semillas de lechuga. Los análisis físico-químicos y los bioensayos indicaron aptitud para el riego y sin toxicidad en las aguas de los arroyos del centro norte de Entre

Ríos, mientras que los del departamento Diamante, si bien no presentan toxicidad, no resultarían aptos para el riego de los cultivos en época de estiaje por su alta conductibilidad.

### 1.3 TEÓRIAS BÁSICAS

**1.3.1 Ecotoxicología(8,9,17)** .- Ciencia que estudia los efectos tóxicos de agentes físicos y químicos sobre organismos vivos, especialmente sobre poblaciones y comunidades en los ecosistemas, incluyendo las formas de transporte de estos agentes y sus interacciones con el medio ambiente.

**1.3.2 La toxicología(8)**.- Estudia los efectos e interacciones nocivas de las sustancias químicas sobre los organismos individuales; la dosis es el criterio que determina el efecto tóxico de una sustancia sobre un individuo.

**1.3.3. Toxicidad(8,18)**.-Propiedad intrínseca de una sustancia, capaz de producir efectos nocivos sobre un organismo vivo cuando este expuesto a una determinada concentración de la sustancia durante un cierto tiempo. Este efecto nocivo puede manifestarse de diferentes formas, enfermedad, muerte, daño genético, inhibición del crecimiento, y otros.

#### 1.3.4. *Lactuca sativa* (Lechuga americana)(19,20)

Planta herbácea de hojas verdes que forman un cogollo compacto. Existen diferentes variedades que pueden cultivarse en lugares de clima frío o templado. La semilla es una unidad de diseminación y reproducción sexual, la raíz es la primera de las partes embrionarias que se desarrolla durante la germinación de la semilla, el tallo tiene una formación cilíndrica y ramificada. Para llegar a la formación de la planta el embrión debe sobre pasar las siguientes fases:

**Cuadro 1. Fases de formación de la planta(21,22)**

<b>Fase de hidratación:</b>	Absorción del agua por parte de los distintos tejidos que forman la semilla y aumento en la actividad respiratoria.
<b>Fase de germinación:</b>	Se producen las transformaciones metabólicas, necesarias para el correcto desarrollo de la plántula y la absorción de agua se reduce considerablemente,
<b>Fase de crecimiento:</b>	Se asocia con el crecimiento de la radícula (cambio morfológico visible). Absorción del agua aumenta.

#### 13.5. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*)

De acuerdo a Sobrero M. y Ronco A. se fundamenta en lo siguiente:

“El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) es una prueba estática de toxicidad aguda (120 h de exposición) en la que se pueden

evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento”.

**Para la evaluación de los efectos fitotóxicos:**

- Determinación de la inhibición en la germinación
- Determinación de la inhibición en la elongación de la radícula y del hipocótilo.

Durante el periodo de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula ocurren numerosos procesos fisiológicos que cambian con la presencia de una sustancia tóxica o mezcla de tóxicos, por lo cual es importante su evaluación. Esta etapa es de gran sensibilidad frente a factores externos adversos. Por otra parte, es de fácil y rápida germinación, por lo que es posible desarrollar la prueba en pocos días



Figura 1. Morfología de la semilla y la plántula de lechuga.

Los resultados nos permiten determinar los efectos tóxicos de los contaminantes aún a muy bajas concentraciones.

De esta manera, la inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo constituyen indicadores subletales muy sensibles para la evaluación de efectos biológicos en vegetales, aportando información complementaria a la proporcionada al estudiar el efecto en la germinación(17).

La obtención de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) se realiza en semilleras locales y de garantía. Las semillas seleccionadas se almacenan fraccionadas a 4 °C, en oscuridad y en ambiente seco. Conservadas en estas condiciones mantienen su vigor al menos durante dos años.

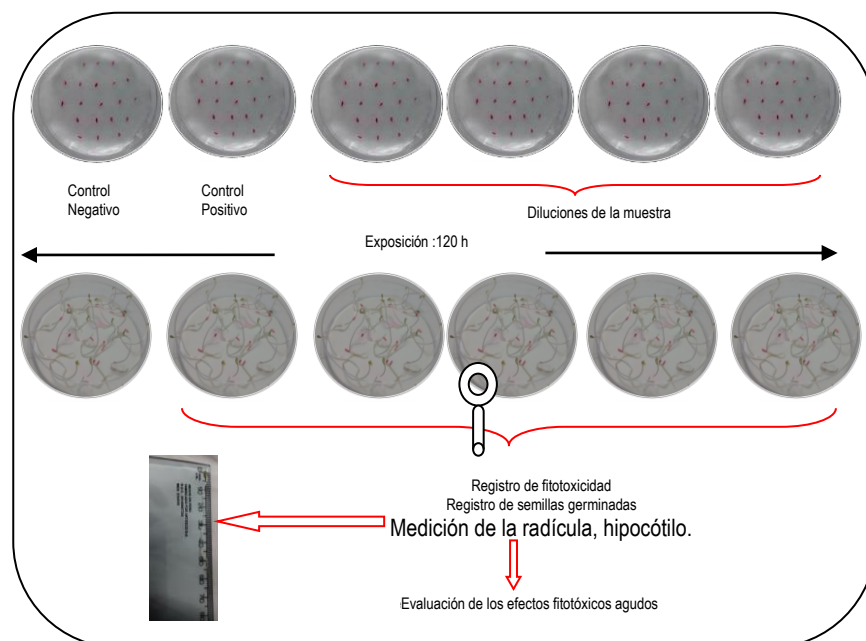


Figura 2. Esquema general del procedimiento de prueba de toxicidad con semillas

Este ensayo puede ser aplicado para la evaluación de la toxicidad de compuestos puros solubles, de aguas superficiales (lagos, ríos), aguas subterráneas, aguas para consumo humano, aguas residuales domésticas e industriales, además de lixiviados de suelos, sedimentos, lodos u otras matrices sólidas(23).

#### Consideraciones a tener en cuenta para el ensayo:

- Colocar 20 semillas en cada placa petri, dejando espacio suficiente entre ellas para permitir la elongación de las raíces.
- Cada placa Petri con la muestra pura y diluciones por triplicado debe cubrirse con su tapa. Colocar en oscuridad en un recipiente adecuado.
- Incubar durante 120 h (cinco días) a una temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ .
- Medida de los puntos finales de evaluación de la fitotoxicidad.

#### En las evaluaciones:

- Terminado el periodo de exposición (120 h), se procede a cuantificar el efecto en la germinación y en la elongación de la radícula y del hipocótilo.
- Registrar el número de semillas que germinaron normalmente,
- Utilizando una regla milimetrada, medir cuidadosamente la longitud de la radícula y del hipocótilo de cada una de las plántulas correspondientes a cada concentración de tóxico o dilución de muestra y a los controles.

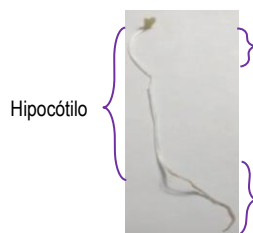


Figura 3. Esquema de plántula de *L. sativa* al finalizar el periodo de exposición



Figura 4. Estadios por los que atraviesa la semilla durante el ensayo de germinación y elongación(24).

#### **Registro de resultados:**

- Promedio y desviación estándar de la elongación de la radícula y del hipocótilo de las plántulas de cada repetición.
- Porcentaje de inhibición del crecimiento de la radícula y del hipocótilo, con el promedio de elongación para cada dilución respecto del promedio de elongación del control negativo.
- Porcentaje de inhibición en la germinación.

#### **Interpretación de los resultados:**

- Los efectos cuantificados sobre la elongación de la radícula o del hipocotilo son efectos subletales.
- Al evaluar la fitotoxicidad de muestras ambientales complejas o con compuestos volátiles, en algunos casos se ha observado que al finalizar el periodo de exposición, la inhibición en la germinación es elevada, existe inhibición marcada de la elongación de la raíz y del hipocótilo. En algunos casos se produce la exaltación en un punto final u hormesis que no debe ser interpretada como un efecto favorable o estimulante y debe evaluarse en forma conjunta con otros efectos y factores.

#### **1.3.4. Técnicas de muestreo y análisis:**

Conforme al Protocolo-Nacional-Monitoreo de la Calidad en cuerpos naturales de agua superficial. Autoridad Nacional del Agua (ANA)(25,26):

**Cuadro 2. Criterios para ubicación de punto de muestreo**

<b>Identificación:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificado y reconocido, de manera que permita su ubicación exacta en muestreos futuros.</li> <li>• Utilizar el GPS (Sistema de Posicionamiento Satelital). El registro será en coordenadas UTM y en el sistema WGS84.</li> </ul>
<b>Accesibilidad:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Que permita un rápido y seguro acceso al lugar establecido para tomar la muestra.</li> </ul>
<b>Representatividad:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evitar zonas de embalse o turbulencias no característicos del cuerpo de agua, a menos que sean el objeto de la evaluación.</li> </ul>

**Registro de datos de campo:**

**Ficha de registro de campo:** Utilizada en el monitoreo y para el análisis de resultados:

- Registro del punto de muestreo, origen de la fuente, descripción detallada, hora y fecha de muestreo, lugar, distrito, provincia-departamento, coordenadas de ubicación, datos del personal que realizó la toma de muestra, condiciones climáticas y otras observaciones pertinentes en el punto de muestreo.
- Se registrarán todas las mediciones realizadas en el monitoreo.
- Para realizar esta actividad será necesario contar con equipos de medición de pH, temperatura, etc.

**Frecuencia de monitoreo**

Se establece de acuerdo a la estacionalidad, ampliando la frecuencia de acuerdo a los impactos negativos que se generan en los recursos hídricos y población; así como la disponibilidad de recursos económicos.

**Tipos de muestras:**

- **Puntual o simple:** muestra recolectada en un sitio específico. Representa un instante en el tiempo y un punto en el espacio del área de muestreo. El diseño del muestreo deberá tener en consideración descargas cíclicas o temporales del cuerpo receptor en estudio.
- **Compuesta o integrada o balanceada:**  
Muestreo representativo de matrices heterogéneas, en la cual la concentración de los químicos de interés puede variar su concentración en el espacio o el tiempo. Las muestras integradas en el tiempo recurren a muestreadores con bombeo a un flujo continuo constante de muestra o la mezcla de volúmenes iguales recolectados a intervalos regulares.

### **Muestreo, preservación, conservación hasta el análisis en el laboratorio.**

La recolección de muestras y el tipo de muestreo debe tener en consideración las recomendaciones establecidas en los “Ensayos toxicológicos de evaluación de calidad de aguas” (27)

#### **Consideraciones Generales:**

- Los frascos requeridos deben ser de polietileno (preferencia primer uso) o vidrio, los cuales deben estar limpios y secos para evitar contaminación.
- Todo equipo debe estar debidamente calibrados.
- Las muestras requieren almacenamiento a baja temperatura y/o preservación con químicos (para evaluación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos) para mantener su integridad durante el transporte y antes del análisis en el laboratorio.
- Registrar las muestras recolectadas (ficha de muestreo) e identifique cada frasco con su etiqueta respectiva.
- Para el muestreo deberá utilizar chaleco, pantalón, gorra, casaca, impermeable, botines de seguridad, botas de jebe muslera, guantes de jebe y quirúrgico.
- Materiales de campo como arnés o soga, balde, linterna, muestreador con extensión, cronometro, coolers.
- Materiales de laboratorio como pizeta, pipetas y/o goteros, bombilla de succión y frascos de plástico y vidrio según el requerimiento de análisis.

#### **Toma, preservación y conservación de muestras de agua**

Es importante considerar las etapas que se tiene que dar en todo proceso de muestreo, con la finalidad que la muestra sea lo más representativa posible y así asegurar la integridad desde su recolección hasta el reporte de los resultados por ello se debe tener en cuenta lo siguiente:

#### **Preservación de las muestras de agua:**

- Una vez tomada la muestra de agua, se procede a adicionarle el preservante requerido.

- Una vez preservada la muestra, cerrar herméticamente el frasco y para mayor seguridad encintar la tapa para evitar cualquier derrame del líquido.

#### **Identificación de las muestras de agua:**

Los envases deben ser identificados antes de la toma de muestra con una etiqueta, escrita con letra clara y legible la cual debe ser protegida con cinta adhesiva transparente conteniendo la siguiente información:

- Número de Muestra (referido al orden de toma de muestra).
- Código de identificación (punto y/o estación de muestreo).
- Origen de la fuente.
- Descripción del punto de muestreo.
- Fecha y hora de la toma de la muestra.
- Preservación realizada, tipo de preservante utilizado.
- Tipo de análisis requerido.
- Nombre del responsable del muestreo.

#### **1.3.5. MARCO NORMATIVO**

- **Ley 28611 - Ley General del Ambiente(28).**

Asegura el derecho a un ambiente saludable y adecuado para el desarrollo de la vida. El Estado a través de sus entidades está a cargo de la protección de la calidad de las aguas y de los demás recursos naturales.

- **Ley N° 29338 - Ley de Recursos Hídricos(29)**

La presente Ley regula el uso y gestión de los recursos hídricos (agua superficial, subterránea, continental y los bienes asociados a esta), se extiende al agua marítima y atmosférica en lo que resulte aplicable. Indica que la Autoridad Nacional de Agua (ANA) es dependiente de Ministerio de Agricultura y autoridad máxima de gestión del recurso hídrico.

- **Decreto Supremo N° 001-2010-AG Reglamento de la Ley de Recursos Hídricos de la ley 29338(30,31)**

En esta norma indican reglamentos para ejercer la Ley general de Recursos Hídricos, especifican los procedimientos adecuados.

- **Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM. Aprueban Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua(6).**



Contiene en el ANEXO I los estándares aprobados, que corresponden el nivel de concentración de elementos, sustancias y parámetros fisicoquímicos, biológicos presentes en el cuerpo receptor que no presenten riesgo significativo para la salud de la población ni el ambiente.

## **1.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

### **1.4.1. Problema general:**

¿Cuál es la toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo *Lactuca sativa*?

### **1.4.2. Problemas específicos**

1. ¿Cuáles son los parámetros físicoquímicos in situ de la muestra de agua en la Estación 6?
2. ¿Cuál es el porcentaje de inhibición en la elongación de la radícula?
3. ¿Cuál es el porcentaje de inhibición del hipocótilo de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?
4. ¿Cuál es el porcentaje de inhibición en la germinación de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?
5. ¿Existen efectos fitotóxicos en el desarrollo de la germinación de la *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?

## **1.5 OBJETIVOS**

### **1.5.1. Objetivo General**

Determinar la toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo *Lactuca sativa*.

### **1.5.2. Objetivos Específicos**

1. Determinar los parámetros físicoquímicos in situ de la muestra de agua en la Estación 6.
2. Determinar el porcentaje de inhibición en la elongación de la radícula de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.
3. Determinar el porcentaje de inhibición del hipocótilo de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.
4. Determinar el porcentaje de inhibición en la germinación de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

5. Determinar los efectos fitotóxicos en el desarrollo de la germinación de la *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

## 1.6. HIPÓTESIS

### 1.6.1. Hipótesis general:

**Ho:** No Existe toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo *Lactuca sativa*.

**Hi:** Existe toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo *Lactuca sativa*.

### 1.6.2. Hipótesis específicas:

**Ho1:** Los parámetros fisicoquímicos in situ de la muestra de agua en la Estación 6 no están dentro de los ECAs del agua.

**Ha1:** Los parámetros fisicoquímicos in situ de la muestra de agua en la Estación 6 están dentro de los ECAs del agua.

**Ho2:** No existe inhibición en la elongación de la radícula de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

**Ha2:** Existe inhibición en la elongación de la raíz de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

**Ho3:** No existe inhibición en la elongación del hypocótilo de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

**Ha3:** Existe inhibición en la elongación del hypocótilo de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

**Ho4:** No existe inhibición en la germinación de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

**Ha4:** Existe inhibición en la germinación de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

**Ho5:** No existe efectos fitotóxicos en el desarrollo de la germinación de la *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?

**Ha5:** Existe efectos fitotóxicos en el desarrollo de la germinación de la *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?

## 1.7. VARIABLES:

### 1.7.1. Variable independiente

Agua superficial del río Chillón del Distrito de Puente Piedra, Estación 6 (E6<sub>1</sub>). Concentraciones utilizadas para el bioensayo de *Lactuca sativa*:

Diluciones y muestra pura: C1=100%, C2=30%, C3=10%, C4=3%, C5= 1%.

Concentraciones de las pruebas de sensibilidad con el tóxico de referencia Sulfato de Zinc (ZnSO<sub>4</sub>).

### 1.7.2. Variable dependiente

- Índice de Toxicidad medida determinada a partir de la siguiente fórmula(11):

$$IER = \frac{Eir - Ecr}{Ecr}$$

Donde:

IER = Índice de la elongación promedio de la raíz de *Lactuca sativa*.

Eir= Longitud promedio de la radícula a diferentes concentraciones

Ecr= Longitud de la radícula del control negativo.

**Cuadro 3. Índice de Toxicidad**

Rangos de IER	Nivel de toxicidad
0 a -0,25	Baja toxicidad
-0,25 a -0,5	Toxicidad moderada
-0,5 a -0,75	Muy tóxico
-0,75 a -1	Toxicidad muy alta
> 0	Crecimiento de la radícula u hormesis

- La Concentración Inhibitoria media CI50 con respecto a la inhibición de la elongación de la radícula y del hipocótilo del tóxico de referencia para el control positivo, a través del Programa estadístico PriProbit Ver 1.63.
- El porcentaje de Inhibición en la elongación de las radícula (%IER) de *Lactuca sativa* se determinó a través de la siguiente fórmula:

$$\% IER = \frac{Ecr - Eir}{Ecr} * 100$$

Donde:

Eir= Longitud promedio de la radícula a diferentes concentraciones

Ecr= Longitud de la radícula del control negativo.

- El porcentaje de Inhibición la elongación del hipocótilo (%IEH) de *Lactuca sativa*.

$$\% IEH = \frac{Ech - Eih}{Ech} * 100$$

Donde:

Eir= Longitud promedio de la radícula a diferentes concentraciones

Ecr= Longitud de la radícula del control negativo.

- Porcentajes de germinación de la raíz de *Lactuca sativa*.
- Efectos fitotóxicos en el desarrollo de la germinación de la *Lactuca sativa*.

De acuerdo a las características morfológicas:

- Cotiledones verdes, con la cascarilla.
- Raíces con pelos absorbentes.
- Raíz pequeña y delgada.
- Hipocótilo pequeño, grueso.

### Constantes

La variables que permanecerán constantes serán las siguientes:

- Número de organismos expuestos (20 por cada concentración),
- Tiempo se exposición (120 horas),
- Número de concentraciones (5, más el Control negativo en cada prueba),
- Fotoperiodo (oscuridad),
- Volumen que se adicionaba a los organismos expuestos (3mL).

**Cuadro 4. Operacionalización de Variables**

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	INSTRUMENTOS/VALOR FINAL	TIPO DE VARIABLES
VI = V1 Aguas superficiales	Concentración de las aguas superficiales.	Porcentaje (%)	Registro de datos. Diluciones a diferentes concentraciones.	Razón
VD = V2 Toxicidad	Semillas de <i>Lactuca sativa</i>	1. Medición de la radícula. 2. Medición del hipocótilo. 3. Conteo de las semillas que germinaron.	<b>Guía de observación</b> % de inhibición de la radícula. % de inhibición del hipocótilo. % de germinación. Efectos fitotóxicos.	Razón Razón

## 1.8. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

El aumento del desarrollo industrial y urbano ha traído consigo la aparición de una cantidad apreciable de sustancias químicas tóxicas, lo cual afecta

tanto la salud humana, como la de los ecosistemas en países desarrollados y en vías de desarrollo. Recientemente en otros países se han incluido bioensayos rápidos con el empleo de plantas como organismos de prueba, los que funcionan como buenas herramientas de diagnóstico inicial y se incluyen dentro de las normativas ambientales.

El uso de plantas vasculares ha sido recomendado por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) y por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA), ambas de EE.UU., ya que presentan una eficiente sensibilidad, en comparación con otras especies de plantas terrestres. La Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE) recomienda el uso de semillas de *Lactuca sativa* (lechuga) para los bioensayos de toxicidad en metales pesados y cuerpo de aguas(32).

De acuerdo a Torres M. (2003) nos indica las ventajas que tienen las plantas para ser incorporadas como bioensayo para medir el peligro ambiental. Estos bioensayos con plantas sirven en la detección y control de los contaminantes tóxicos ambientales y son de utilidad en la evaluación toxicológica de muestras ambientales; siendo un instrumento alternativo y que complementa los tradicionales análisis químicos para la determinación de toxicidad de muestras ambientales, ya que los organismos vivos presentan alguna respuesta a niveles peligrosos de cualquier sustancia química o mezcla compleja de tóxicos presentes.

Los bioensayos in vitro han ganado aceptación en las estrategias de biomonitoreo, fundamentalmente porque suministran resultados confiables, son costo-efectivos, simples y rápidos. Estos bioensayos pueden auxiliar en la evaluación de los efectos a la salud (toxicidad humana y animal) y de los efectos ecológicos de millares de sustancias químicas tóxicas que son introducidas por varias vías en el ambiente y permiten su aplicación en programas de monitoreo en la evaluación de la toxicidad(33).

Los ECAs para la calidad ambiental del agua del D.S. N° 002 – 2008 – MINAM(6), sólo considera los parámetro fisicoquímicos y microbiológico, no los ensayos toxicológicos. Estos ensayos con *Lactuca sativa* se ha realizado para evaluar toxicidad de metales pesados, plaguicidas, entre otros, pero no han utilizado para la evaluación de la toxicidad de las aguas superficiales, por lo que sería de importancia para medir el efecto sobre los organismos

causados por todas las sustancias presentes en efluentes y cuerpos de aguas, lo que se denomina la evaluación de la toxicidad del efluente como un todo, una metodología internacionalmente validada y aceptada en varias normativas internacionales como la US EPA(27).

La presente investigación constituye un aporte para la utilización del bioensayo con *Lactuca sativa* como una herramienta valiosa(34) en la identificación, monitoreo y control de la introducción de contaminantes tóxicos potenciales en el ambiente y sería importante para la inclusión de evaluación de la toxicidad en cuerpos de agua en nuestra normativa como se incluye en otros países de Latinoamérica y Europa.

### **1.9. VIABILIDAD**

El presente proyecto de investigación se consideró viable por las siguientes razones:

- Los costos que generaron la realización del Proyecto fueron autofinanciados por la tesista.
- Los laboratorios y equipos utilizados fueron proporcionados por la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM y el laboratorio de la Escuela de Ingeniería Ambiental de la Universidad Cesar Vallejo.
- El bioensayo con *Lactuca sativa* es una técnica sencilla, de metodología estandarizada y de fácil realización. Las semillas se adquieren fácilmente y la muestra de aguas superficiales se recogerá del cruce del Río Chillón con la Panamericana Norte.

### **1.10. LIMITACIONES**

La presente investigación tiene un alcance en el tiempo de 4 meses, se inició en el mes de setiembre del 2015 y culminará en diciembre del presente año. Se basó en información bibliográfica de tesis, investigaciones científicas, metodologías estandarizadas y trabajos de campo.

Encontrándose las siguientes limitaciones:

La zona de muestreo está cerca a empresas informales y es riesgoso por la inseguridad.

## CAPÍTULO II

### 2.1. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1.1. MATERIALES Y REACTIVOS

- Placas Petri de 100 mm de diámetro
- Matraces aforados de 50 mL
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 5 y 10 mL
- Regla milimetrada
- Pinzas
- Toallas de papel
- Bolsas plásticas
- Papel de filtro de paso lento, 90 mm de diámetro.
- Cámara oscura.
- Cooler
- Sulfato de Zinc
- Agua de consumo San Mateo

#### 2.1.2. INSTRUMENTOS

- Multiparámetro HACH HQ40d: Termómetro, Conductímetro, Oxímetro y pH-metro.
- Set patrones de pH y conductividad.
- Set de calibración del Turbidímetro con solución de Formazina.
- Turbidímetro T-100 Oakton marca Eutech Instruments.
- Regla en mm
- Balanza analítica

#### **Organismos de prueba**

Semillas de lechuga de la especie *Lactuca sativa*.

### 2.2. DEFINICIONES CONCEPTUALES(24,35–37)

- **Análisis fisicoquímicos de agua in situ:** son los análisis de los parámetros de temperatura, pH, conductividad, turbiedad y Oxígeno Disuelto que se realizar en el lugar de muestreo.
- **Bioensayo(7,38,39):** Se emplean como herramienta de diagnóstico para evaluar los efectos que puede generar un agente toxico o conjunto de ellos, aún a bajas concentraciones sobre un organismo específico. Esta relación se

puede determinar por (muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos).

- **CE50/CI50:** Concentración efectiva o de inhibición media. Concentración del tóxico en agua, suelo o sedimento que se estima afecta al 50% de los organismos de ensayo. Se determina mediante análisis estadístico.
- **Contaminante:** Una sustancia que se encuentra en un medio al cual no pertenece o que lo hace a niveles que pueden causar efectos adversos para la salud o el medio ambiente. También se le define como la presencia de cualquier agente físico, químico o biológico, en lugares, formas, concentraciones y con una duración que sean nocivos para la salud, la seguridad o bienestar de la población, o perjudiciales para la flora y fauna de los ecosistemas.
- **Concentración Letal Media (CL50)**  
Concentración, calculada estadísticamente, de una sustancia en el medio, que se espera que no germine el 50% de las semillas de una población bajo el conjunto de condiciones definidas(40).
- **Control positivo** o sustancia de referencia, evalúa la respuesta tóxica, utilizada para controlar la sensibilidad de los organismos al momento en el cual se evalúa el material problema(24).
- **Control negativo:** Evaluación de la respuesta normal con agua dura reconstituida o agua de consumo.
- **Fitotoxicidad:** Se refiere a tóxicos que afectan a los vegetales. Efectos de toxicidad en especies vegetales sensible.
- **Germinación:** Se genera por medio del crecimiento del embrión una vez superado el periodo de latencia y cuando las condiciones de temperatura, luz, disponibilidad de oxígeno y agua son las adecuadas se desarrolla la plántula y da comienzo el ciclo de vida.
- **Hipocótilo:** Porción del tallo de un embrión o de la plántula situado entre los cotiledones y la radícula.
- **Índice de toxicidad:** indica los resultados de los ensayos de toxicidad, que con un valor numérico las clasifica según categorías.



- ***Lactuca sativa L. (Lechuga americana)***: Planta herbácea hortícola, propia de las regiones templadas, comestible que tiene una alta sensibilidad a la presencia de agentes extraños.
- **Probit(41–43)**. es un método que consiste en la aplicación de correlaciones estadísticas para estimar las consecuencias desfavorables sobre una población. Un tipo de regresión lineal que se construye para conocer la relación que existe entre una variable independiente (la concentración del tóxico) y una variable dependiente (Inhibición de la elongación de la radícula o muerte de los organismos) y un tiempo de exposición al tóxico.
- **Radícula**: Extremo basal del eje embrionario, raíz originada en la semilla y que permitirá la raíz primaria.
- **Sulfato de Zinc (ZnSO<sub>4</sub>)**: compuesto químico cristalino, incoloro y soluble en agua, aunque siempre va acompañado de un determinado número de moléculas de agua de hidratación.
- **Toxicidad aguda**: Efecto adverso (letal o subletal) expuesto a los organismos de ensayo en pruebas durante un periodo de exposición (usualmente de pocos días) del material de ensayo.

## **2.5. MÉTODOS**

Se utilizó el método experimental, ya que la variable independiente: muestra de aguas superficial de la Estación 6 del río Chillón, es manipulada para luego ser analizada y ver las consecuencias que consigue sobre la variable dependiente dentro del análisis experimental(44). El método consta de las siguientes etapas:

### **2.5.1. I Etapa:**

Se realizó 2 tomas de muestras mediante un muestreo puntual. Las muestras fueron tomadas en el mismo punto de muestreo, pero en diferentes meses noviembre (23/11/15) y diciembre (13/12/15). Se eligió el punto denominado E61 por la accesibilidad, representatividad porque no había mucha turbulencia, ni piedras que afectaran los análisis in situ y para el muestreo de agua para el bioensayo en el laboratorio.

**Cuadro 5. Ubicación del punto de muestreo del mes de noviembre**

<b>Cuerpo de agua</b>	:	Aguas superficiales del río Chillón (E6 <sub>1</sub> )
<b>Clasificación del Cuerpo de agua</b>	:	Categoría 1-A2 / Clase 2
<b>Cuenca</b>	:	Chillón
<b>Código de cuenca</b>	:	137556
<b><u>Identificación del punto</u></b>		
<b>Código del punto de monitoreo</b>	:	E6 <sub>1</sub>
<b>Ubicación</b>	:	Cercano al cruce de la Panamericana Norte con el río Chillón. Antes del puente
<b>Accesibilidad</b>	:	Ingreso por debajo del puente de la Panamericana Norte.
<b>Representatividad</b>	:	Se ubicó el punto después de un recorrido por la ribera del río donde se observó cauce regular, sin turbulencias.
<b>Descripción del lugar</b>	:	Gran cantidad de residuos sólidos de toda clase, en la ribera y en el mismo cuerpo de agua.
<b>Ubicación</b>	:	
<b>Distrito:</b> Comas	<b>Provincia:</b> Lima	<b>Departamento:</b> Lima
<b>Medición de posicionamiento</b>	:	

Tipo de coordenadas	UTM (Unidades técnicas métricas)
Tipo de proyección	WGS 84
Zona UTM	18 L
Coordenadas Este (m)	274205
Coordenadas Norte (m)	8681737
Altitud (msnm)	148

Medición del caudal (promedio) : 0.59 L/s



Fecha: 23/11/15

**Cuadro 6. Ubicación del punto de muestreo del mes de diciembre**

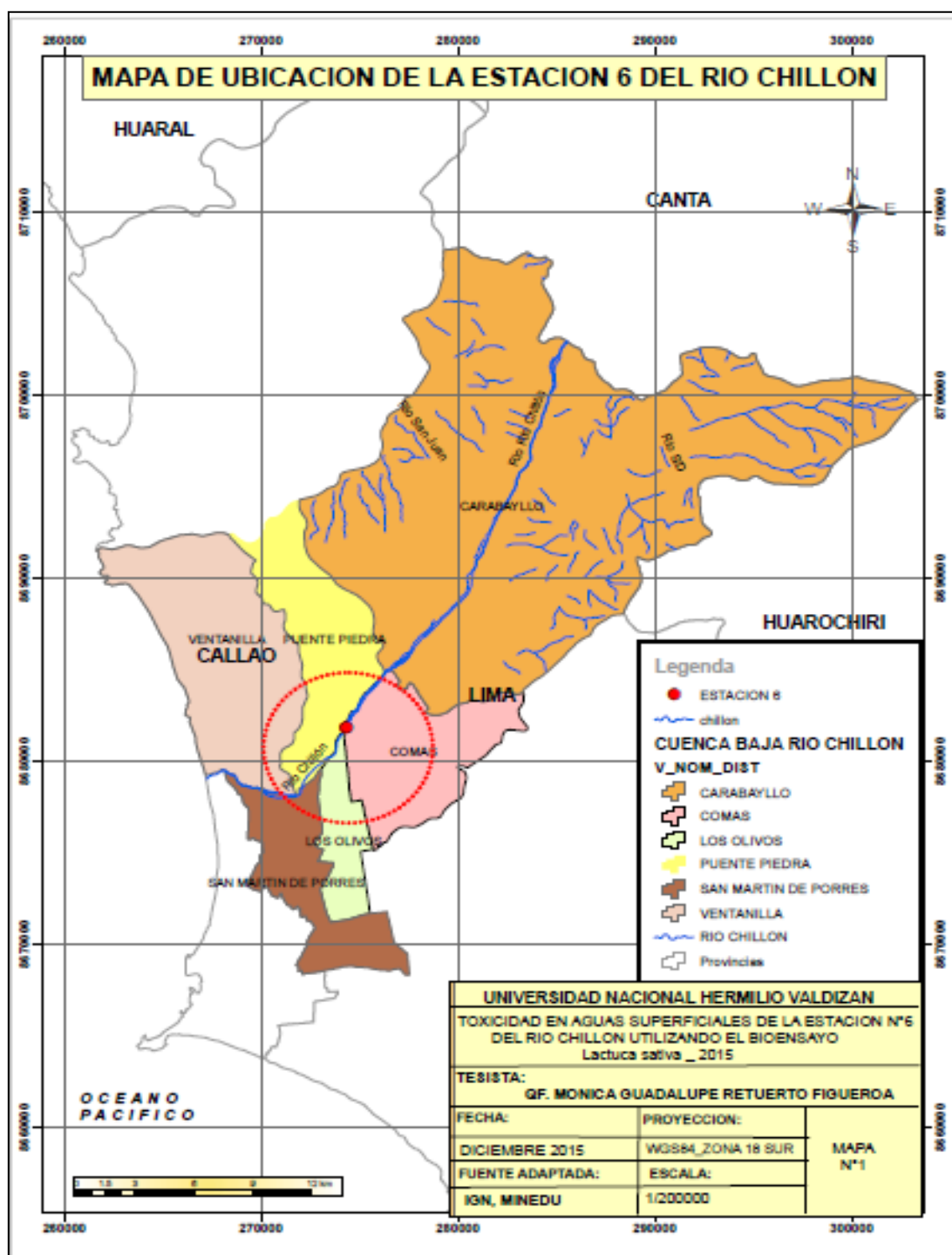
<b>Cuerpo de agua</b>	:	Aguas superficiales del río Chillón (E6 <sub>1</sub> )
<b>Clasificación del Cuerpo de agua</b>	:	Categoría 1-A2 / Clase 2
<b>Cuenca</b>	:	Chillón
<b>Código de cuenca</b>	:	137556
<b>Identificación del punto</b>		
<b>Código del punto de monitoreo</b>	:	E6 <sub>1</sub>
<b>Ubicación</b>	:	Cercano al cruce de la Panamericana Norte con el río Chillón. Antes del puente
<b>Accesibilidad</b>	:	Ingreso por debajo del puente de la Panamericana Norte.
<b>Representatividad</b>	:	Se ubicó el punto después de un recorrido por la ribera del río donde se observó cauce regular, sin turbulencias.
<b>Descripción del lugar</b>	:	Gran cantidad de residuos sólidos de toda clase, en la ribera y en el mismo cuerpo de agua.
<b>Ubicación</b>	:	
<b>Distrito:</b> Comas	<b>Provincia:</b> Lima	<b>Departamento:</b> Lima
<b>Medición de posicionamiento</b>	:	

Tipo de coordenadas	UTM (Unidades técnicas métricas)
Tipo de proyección	WGS 84
Zona UTM	18 L
Coordenadas Este (m)	274205
Coordenadas Norte (m)	8681737
Altitud (msnm)	148

Medición del caudal (promedio) : 2,22 L/s

**Fecha: 13/12/15**

Cuadro 7. Mapa de ubicación del punto de muestreo de la Estación 6 del río Chillón



## 2.5.2. II Etapa

- Toma de muestra de agua de la Estación 6 del río Chillón:

Toma de muestra de la Estación 6(E6<sub>1</sub>)

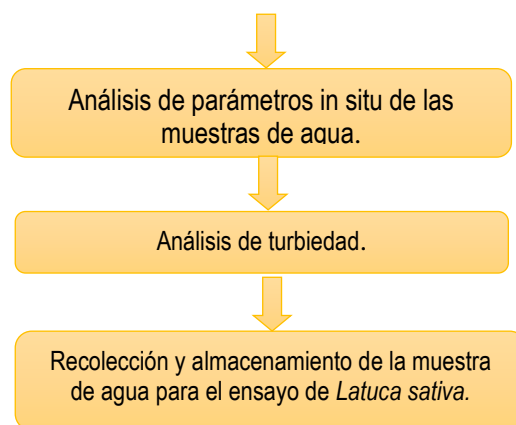


Figura 5. Diagrama de flujo de la Recolección de la muestra

### III. Etapa:

#### Procedimiento del Bioensayo de toxicidad con semillas de *Lactuca sativa*.

##### a.1. Selección y adquisición de la semilla:

Se adquirió la bolsa de semillas de un establecimiento con garantía: “El Huerto” de la Universidad La Molina. La semilla utilizada fue de *Lactuca sativa* (lechuga americana) y se eligió por las siguientes razones:

- Rápida germinación,
- Facilidad de medición
- Alta y constante sensibilidad a tóxicos.
- Estabilidad genética y uniformidad.
- Representatividad de su nivel trófico.
- Facilidad de cultivo y adaptabilidad a las condiciones de laboratorio.
- No requiere equipamiento sofisticado.

Se comprobó el porcentaje de germinación: 100%

##### a.2. Preparación del tóxico de referencia:

Se eligió el sulfato de Zinc ( $ZnSO_4$ ) de acuerdo a lo recomendado por la Metodología de Sobrero y la Agencia Environment Canadá.

Primero se preparó una solución estándar de 1000ppm y luego las diluciones de: 100ppm, 30ppm, 10ppm, 3ppm y 1ppm.



Figura 6. Preparación de las diferentes concentraciones del Sulfato de Zinc

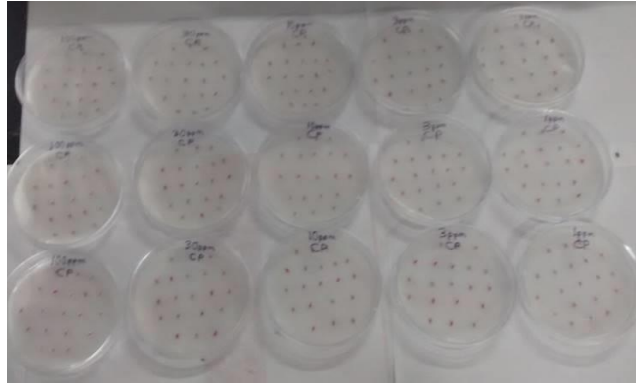


Figura 7. Placas Petri a diferentes concentraciones del Sulfato de Zinc

### a.3. Bioensayo de *Lactuca sativa* con las muestras del 1er. y 2do muestreo.

El procedimiento para ambas muestras fue el mismo:

- La preparación de las diluciones y control negativo fue con el agua de consumo San Mateo.
- Se preparó una muestra pura y 4 diluciones, utilizando el factor 0,3:  
C1= 100%, C2=30%, C3=10%, C4=3%, C5=1% y un control negativo.  
Todas las muestras por triplicado.

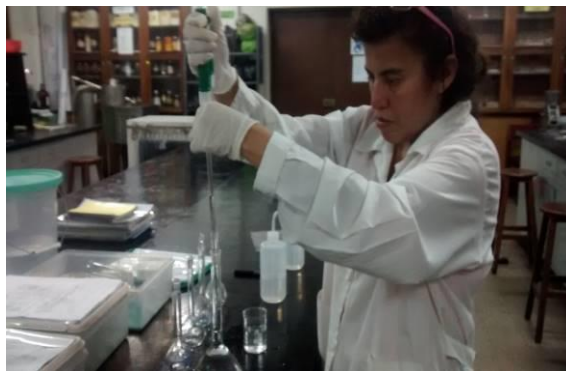


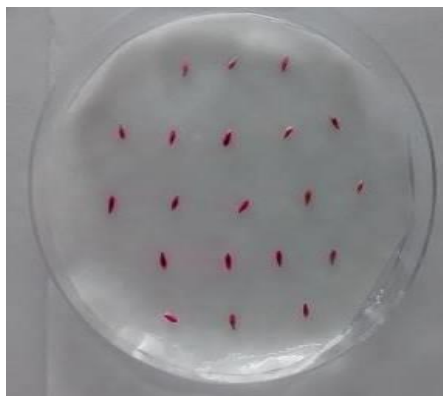
Figura 8. Preparación de las muestras y diluciones

- Se acondicionó las placas Petri, colocando el papel de filtro y se adicionó 3mL de la solución correspondiente, evitando que se formen bolsas de aire.



**Figura 9. Acondicionamiento de las placas Petri**

- En cada placa petri se coloca 20 semillas en una secuencia de 3, 5, 5, 4,3 con el espacio suficiente para su desarrollo.



**Figura 10. Forma de colocar las semillas**

- Obtenido la batería de placas Petri fueron llevadas a la cámara oscura, cubiertas por cartulina de color negro y se almacenan durante 120 horas (5 días) en un lugar con condiciones estándares de temperatura y humedad.
- Después se procede a medir: Índice de toxicidad, % de germinación, % de elongación de la raíz y hipocótilo; así como los efectos fitotóxicos del proceso de germinación.

## **2.6. Tipo de estudio**

La presente investigación fue Experimental, porque se manipuló intencionalmente la variable independiente (concentraciones de las muestras

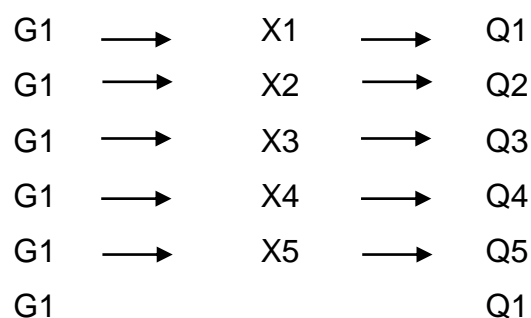


de agua) para analizar las consecuencias sobre la variable dependiente (toxicidad de las muestras) dentro de una situación de control para el investigador. Cuantitativo, porque analiza las variables de estudio, además es medible y pretende dar un aporte científico. (44).

### 2.5.2. Diseño

#### De acuerdo al tipo de Diseño:

El diseño de nuestra investigación fue experimento puro con Diseño de post prueba y grupo control(45,46).



G: grupo de sujetos.

X: tratamiento, estímulo o condición experimental.

O: medición de los sujetos de un grupo.

\_\_\_: ausencia de estímulo (grupo control)

### 2.6. POBLACIÓN

La población objeto de estudio son las aguas superficiales de la Estación 6, específicamente antes del cruce de la Panamericana con el río Chillón, porque es ahí donde se mezclan los efluentes de las distintas empresas informales de la zona y los residuos sólidos eliminados por la población aledaña.

### 2.7. MUESTRA

Se realizó 2 muestreos, uno en el mes de noviembre (época de estiaje) y otro en el mes de diciembre (época de avenida) y se analizó los parámetros fisicoquímicos in situ y la muestra preservada en cooler se llevó al laboratorio para el bioensayo de toxicidad en *Latuca sativa*. Se utilizó 100mL de la muestra para la preparación de las diferentes concentraciones para trabajar el bioensayo con *Lactuca sativa*.

### 2.8. DEFINICIÓN OPERATIVA DE LOS INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN

## DE DATOS

### 2.8.1. TÉCNICAS:

#### **Análisis con los equipos de campo para los análisis in situ.**

**Observación directa:** La observación directa cada día cobra mayor credibilidad y su uso tiende a generalizarse, debido a que permite obtener información directa y confiable, siempre y cuando se haga mediante un procedimiento sistematizado y muy controlado.

### 2.8.2. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Los instrumentos que se emplearon en la presente investigación son:

- **El Instrumento N° 01:** Ubicación del punto de muestreo.
- **El Instrumento N° 02:** Registro de Datos de campo y parámetros fisicoquímicos evaluados.
- **El instrumento N° 03:** Ficha de Registro N°1 del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana).

Los instrumentos elaborados fueron adaptados de la propuesta por la Autoridad Nacional del ANA y la tesista.

### 2.8.3. TÉCNICAS DE RECOJO, PROCESAMIENTO Y PRESENTACIÓN DE DATOS.

- Para el análisis de datos se utilizó el programa SPSS Estadísticas Versión 22 para determinar normalidad de los datos, comprobándose mediante el método ANOVA si hubo diferencias significativas para el índice de toxicidad, el % de inhibición de la raíz, % de inhibición del hipocótilo y % de inhibición de la germinación, así como los efectos fitotóxicos.
- Para determinar la CI50 del tóxico de referencia se utilizó el Programa estadístico Probit Vers. 1.68.
- Se utilizó también el programa Estadístico Excel versión 2010, para colocar la base de datos de la Ficha de registro del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana).

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS

#### 3.1. Resultados del muestreo de la estación 6 (E61)

##### 3.1.1. Determinación de los parámetros in situ en la E61 en los 2 muestreos.

Cuadro 8. Instrumento N° 02: Registro de datos de campo y parámetros fisicoquímicos evaluados.

##### a) Medición del caudal:

Fecha	Tiempo (s)	V (L)	Caudal (L/s)	Caudal promedio (L/s)
23/11/15	6,33	4	0,63	0.59
	6,30	4	0,63	
	8,16	4	0,49	
13/12/15	1.7	4	2,35	2.22
	1.9	4	2,11	
	1.8	4	2,22	

##### b) Medición de los parámetros fisicoquímicos in situ.

Fechas	Ubicación	Hora:	PARAMETROS FISICOS QUIMICOS	VALOR	ECAS (Categoría 1. A2)
23/11/15	N: 0274205 E: 8681737 Altura: 148msnm	12,28	pH	7.95	5.5 – 9
		12,30	TURBIEDAD (UNT)	31.3	100
		12,32	TEMPERATURA (°C)	27.3 °C	-
		12,34	CONDUCTIVIDAD (µS/cm)	1184	1600
		12,36	O.D (ppm) PORCENTAJE DE SATURACIÓN (%)	4.91 60.3%	>=5
13/12/15	N:0274205 E: 8681737 Altura: 148msnm	12,36	Ph	7.93	5.5 – 9
		12,36	TURBIEDAD (UNT)	11.28	100
		12:40	TEMPERATURA (°C)	23.8 °C	-
		12:43	CONDUCTIVIDAD (µS/cm)	933	1600
		12:44	O.D (ppm)	4.95 mg/L	>=5
		12:46	PORCENTAJE DE SATURACIÓN (%)	60.10%	

#### 3.2. Resultados del Bioensayo de toxicidad con *Lactuca sativa*

##### 3.2.1. Resultados de la CI50r del sulfato de Zinc utilizado como control positivo del mes de noviembre.

Los datos se encuentran en el Anexo. Ficha de Registro N° 1a del Control positivo (Sulfato de Zinc) del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana). De la tabla hallamos los porcentajes de inhibición de la Elongación de la radícula.

La tabla siguiente fue ingresada al programa estadístico PriProbit, versión 1.63 y determinamos la CI50r con respecto a la radícula.

**Cuadro 9. Resultados de la primera prueba CI50 con el Programa Priprobit (Elongación de la radícula)**

Concentraciones (C: ppm)	Expuestos (%)	%EIR	Log <sub>10</sub> (C)	CI50 (ppm)
0	100	0,00		<b>29,63</b>
1	100	10,82	0,0	
3	100	14,32	0,5	
10	100	33,80	1,0	
30	100	50,56	1,5	
100	100	69,06	2,0	

**Cuadro 10. Resultados de la primera prueba CI50 con el Programa Priprobit (Elongación del hipocótilo)**

Concentraciones (C: ppm)	Expuestos (%)	%EIH	Log <sub>10</sub> (C)	CI50 (ppm)
0	100	0,00		<b>41,34</b>
1	100	8,28	0,0	
3	100	25,39	0,5	
10	100	38,83	1,0	
30	100	50,74	1,5	
100	100	53,58	2,0	

### 3.2.2. Resultados de la CI50 del sulfato de Zinc utilizado como control positivo del mes de diciembre.

Los datos se encuentran en el Anexo. Ficha de Registro N° 2a del Control positivo (Sulfato de Zinc) del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana). De la tabla hallamos los porcentajes de inhibición de la Elongación de la radícula.

La tabla siguiente fue ingresada al programa estadístico PriProbit, versión 1.63 y determinamos la CI50 con respecto a la radícula.

**Cuadro 11. Resultados de la primera prueba CI50 con el Programa Priprobit (Elongación de la radícula)**

Concentraciones (C: ppm)	Expuestos (%)	%EIR	Log <sub>10</sub> (C)	CI50 (ppm)
0	100	0,00		<b>27,02</b>
1	100	11,94	0,0	
3	100	14,44	0,5	

10	100	42,08	1,0
30	100	57,29	1,5
100	100	62,85	2,0

**Cuadro 12. Resultados de la primera prueba CI50 con el Programa Priprobit (Elongación del hipocótilo)**

Concentraciones (C: ppm)	Expuestos (%)	%EIH	Log <sub>10</sub> (C)	CI50 (ppm)
0	100	0,00		<b>38,34</b>
1	100	8,17	0,0	
3	100	20,01	0,5	
10	100	40,79	1,0	
30	100	50,33	1,5	
100	100	55,90	2,0	

De los resultados anteriores obtenemos la CI50 con respecto a la inhibición de la radícula y del hipocótilo.

**Cuadro 13. CI50r y CI50h del control positivo.**

<b>CI50r (Respecto a la inhibición de la radícula)</b>			<b>CI50r (Respecto a la inhibición del hipocótilo)</b>		
CI50r (ppm) (Noviembre)	CI50r (ppm) (Diciembre)	Promedio CI50r (ppm)	CI50r (ppm) (Noviembre)	CI50r (ppm) (Diciembre)	Promedio CI50r (ppm)
29,63	27,021	<b>28,33</b>	41,34	38,34	<b>39,84</b>

En el cuadro 13 se muestra los resultados de las CI50 respecto al %IER y del %IEH que fueron determinados por el programa estadístico PriProbit, versión 1.63.

Se establece el valor promedio de la CI50r de 28,33ppm y de la CI50h de 39,84ppm.

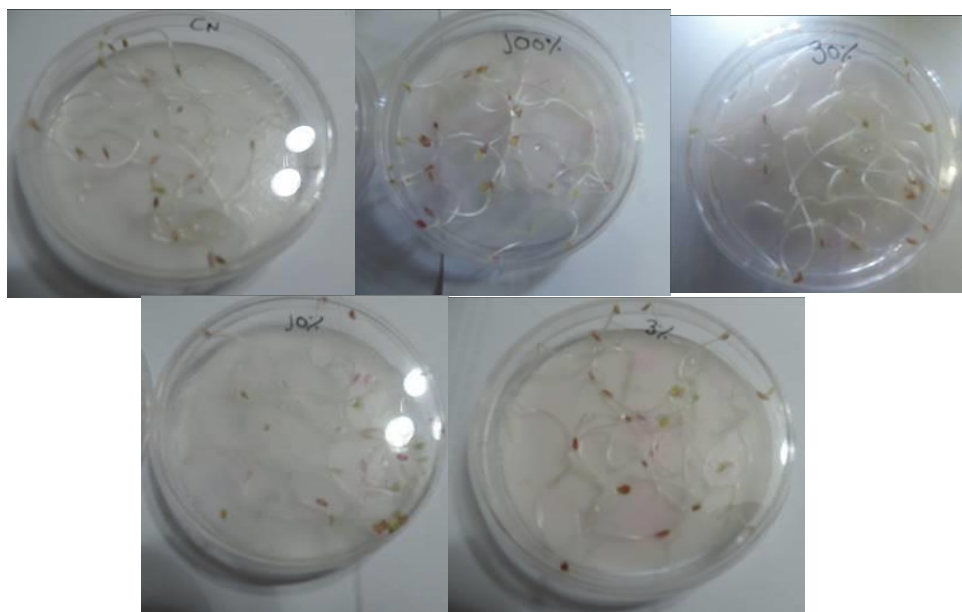
Con los resultados obtenidos del control positivo podemos realizar el bioensayo de las aguas superficiales de la Estación 6 con las semillas compradas del huerto de la Universidad La Molina.

### **3.2.3. Resultados del 1er. muestreo: 23/11/15**

Después de las 120 horas del bioensayo se procedió a realizar lo siguiente:

- Numero de semillas germinadas en cada placa de las diferentes concentraciones trabajadas.
- Medición de la raíz y del hipocótilo
- Observación de efectos fitotóxicos: presencia de cotiledones libres y pelos absorbentes.

- Los datos se encuentran registrados en las **Ficha de Registro N°1 del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana)**

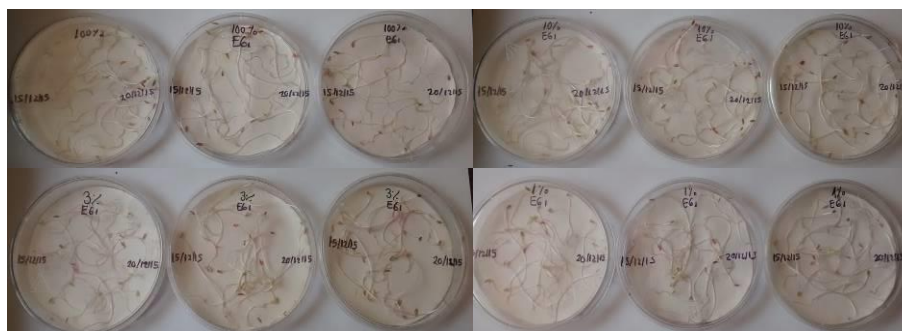


**Figura 11. Resultados del bioensayo de *Lactuca sativa* a diferentes concentraciones (1er muestreo)**

### 3.2.4. Resultados del 2do. muestreo: 13/12/15

Después de las 120 horas del bioensayo se procedió a realizar lo siguiente:

- Numero de semillas germinadas en cada placa de las diferentes concentraciones trabajadas.
- Medición de la raíz y del hipocótilo
- Observación de efectos fitotóxicos: presencia de cotiledones libres y pelos absorbentes.
- Los datos se encuentran registrados en las **Ficha de Registro N°2 del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana)**



**Cuadro 14. Ficha de Registro N°1 del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana)**

Muestra : Agua superficial de la Estación 6 del río Chillón (E61)

Fecha de inicio: 25/11/15

Hora de inicio: 6pm

Investigadora : Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa

Fecha Fin : 30/11/15

Hora de Fin : 6pm

	CN(1)		CN(2)		CN(3)		100%(1)		100%(2)		100%(3)		30%(1)		30%(2)		30%(3)		10%(1)		10%(2)		10%(3)		3%(1)		3%(2)		3%(3)		1%(1)		1%(2)		1%(3)	
	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R
	mm																																			
1	48	25	45	25	45	20	40	14	42	18	44	18	42	16	39	18	36	25	40	15	40	19	41	20	48	25	47	22	45	21	45	20	42	27	41	24
2	45	20	42	27	47	24	38	15	40	16	40	20	35	18	40	15	41	15	37	18	38	25	42	23	44	26	45	20	43	25	43	18	53	32	51	28
3	50	20	40	28	48	25	36	16	39	16	39	16	40	15	32	21	39	16	38	20	38	22	42	21	43	23	42	20	43	22	45	22	45	23	44	23
4	52	28	48	30	46	26	39	14	38	14	40	18	45	20	40	15	43	14	35	15	45	23	39	22	40	26	45	24	42	20	42	28	44	26	48	28
5	46	25	40	27	50	28	37	17	37	18	38	20	40	17	41	23	34	16	36	17	40	23	42	23	46	25	45	28	44	25	44	24	50	24	48	26
6	50	30	40	25	44	27	40	20	36	19	39	17	38	16	43	25	33	15	42	22	37	22	38	22	44	28	43	23	41	24	35	28	50	29	47	26
7	47	25	40	28	48	26	39	17	40	16	37	19	37	16	52	24	40	15	43	23	46	23	40	23	47	25	40	22	42	23	48	24	45	25	36	22
8	51	24	45	28	45	21	36	18	40	20	40	20	39	21	45	20	42	20	41	24	39	22	42	23	45	28	43	18	40	22	38	24	35	20	43	18
9	48	23	48	27	46	24	35	15	38	16	39	16	37	21	42	18	38	19	42	19	41	23	41	24	46	26	45	22	43	25	45	29	45	22	45	22
10	49	21	46	25	43	22	35	16	36	17	35	16	42	17	40	19	31	17	44	21	48	26	42	23	42	25	44	25	40	20	43	19	35	23	26	23
11	51	24	52	23	44	20	36	18	35	20	37	18	40	18	38	16	39	20	39	22	38	24	43	21	42	29	46	22	44	21	48	29	45	24	42	24
12	52	22	40	28	42	23	38	15	40	19	38	15	39	17	39	17	40	18	42	19	42	23	40	19	44	25	45	24	40	18	52	28	46	20	46	20
13	50	20	45	25	50	24	35	16	38	15	36	17	41	16	40	16	41	21	41	21	44	24	38	18	43	19	45	24	45	25	50	28	55	26	42	26
14	46	23	45	32	45	21	36	15	40	17	35	20	38	20	39	18	39	19	38	25	42	25	44	18	42	29	46	23	43	23	45	29	40	25	41	25
15	44	24	42	23	44	22	41	18	38	18	40	18	36	19	38	20	43	22	41	24	41	26	41	19	41	26	47	22	41	24	43	19	45	24	45	24
16	45	21	44	25	46	20	39	17	37	15	39	16	41	20	40	17	38	18	43	23	39	24	42	20	45	22	45	22	44	22	36	24	49	25	50	25
17	48	24	43	24	50	23	38	19	36	14	37	19	39	17	41	20	40	19	40	19	42	22	43	19	42	24	43	35	40	25	45	25	46	25	50	25
18	49	23	42	26	46	24	38	20	38	19	36	17	41	18	39	15	41	20	41	20	44	21	40	22	41	19	43	22	46	26	42	22	52	26	48	26
19	45	22	44	22	47	23	36	18	39	20	38	16	40	19	42	19	38	19	39	18	40	18	45	21	45	32	41	21	47	25	46	20	52	25	51	25
20	43	21	45	24	45	22	40	19	38	18	39	17	40	15	40	20	41	22	40	21	42	20	43	19	40	20	40	23	44	26	46	21	45	20	43	22
% GERM.	100						100						100						100						100						100					
Observaciones:	18 cotiledones verdes 18 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						11 cotiledones verdes 3 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						14 cotiledones verdes 6 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						13 cotiledones verdes 11 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						15 cotiledones verdes 14 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						16 cotiledones verdes 15 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.					

**Leyenda:** CN: Control Negativo. H: Hipocótilo R: Radícula %GERM. : Porcentaje de germinación.

Cuadro 15. Ficha de Registro N°2 del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana)

Muestra : Agua superficial de la Estación 6 del río Chillón E61  
 Investigadora : Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa

Fecha de inicio: 15/12/15  
 Fecha Fin: 20/12/15

Hora de inicio: 6pm  
 Hora de Fin: 6pm

	CN(1)		CN(2)		CN(3)		100%(1)		100%(2)		100%(3)		30%(1)		30%(2)		30%(3)		10%(1)		10%(2)		10%(3)		3%(1)		3%(2)		3%(3)		1%(1)		1%(2)		1%(3)		
	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	
	Mm																																				
1	45	26	50	26	47	24	37	22	44	17	41	14	40	21	40	19	38	20	44	18	42	20	52	18	44	20	43	21	44	20	50	23	40	21	41	22	
2	40	25	40	22	44	21	42	19	36	13	36	14	40	20	39	20	42	18	44	20	40	19	50	18	41	22	44	23	43	24	40	20	42	20	42	19	
3	44	23	43	26	48	26	36	19	46	17	38	16	39	18	38	19	39	17	41	20	39	20	48	20	42	20	41	21	42	19	39	19	48	20	40	20	
4	47	26	46	28	44	26	38	20	46	18	42	18	37	21	40	20	40	20	50	25	38	15	46	25	41	19	42	18	41	20	42	20	45	22	45	25	
5	46	25	44	27	50	25	41	18	42	16	42	16	35	20	40	21	39	17	44	20	42	14	48	20	42	20	44	20	45	20	43	21	44	21	39	21	
6	48	29	50	30	45	21	38	16	40	17	42	17	40	22	39	20	41	21	43	19	45	22	49	20	45	19	45	20	41	19	50	20	42	20	40	19	
7	50	28	45	28	49	25	42	18	41	20	38	16	36	18	45	20	38	16	41	20	45	21	40	21	44	21	41	17	42	16	50	23	44	21	41	21	
8	46	25	47	26	45	23	41	21	43	16	40	24	39	17	38	25	40	20	41	19	40	21	45	20	45	20	43	22	40	25	48	22	50	22	43	22	
9	48	27	48	25	46	24	39	18	31	12	35	16	40	20	41	20	39	16	40	20	44	20	42	21	42	20	41	19	43	21	47	20	48	21	45	22	
10	49	23	45	25	45	24	40	20	36	20	39	17	37	15	40	30	42	19	34	16	42	21	39	18	41	20	44	19	45	20	44	22	42	20	43	21	
11	50	26	50	24	43	25	39	25	36	25	40	16	36	14	39	20	39	20	38	17	40	19	42	20	44	20	46	22	45	21	55	25	50	22	40	19	
12	52	25	46	25	50	26	41	22	26	15	38	16	35	18	41	21	39	20	41	19	41	19	41	19	41	19	43	21	44	18	50	20	43	21	42	21	
13	48	24	47	23	45	24	39	17	37	15	42	25	36	19	42	21	40	21	40	19	39	18	40	21	42	21	44	23	45	22	40	20	42	22	40	21	
14	51	25	48	27	43	22	38	16	38	19	41	20	38	16	40	20	41	18	41	20	41	17	41	20	43	24	42	25	42	24	42	20	50	21	42	20	
15	48	23	43	23	48	22	40	20	36	20	46	18	42	20	40	19	40	19	40	20	40	16	40	19	41	22	41	22	44	23	45	22	42	21	43	21	
16	47	23	46	25	46	21	39	22	38	21	43	15	41	18	42	15	42	18	44	25	42	16	45	21	40	20	42	23	41	19	42	21	43	22	44	22	
17	50	25	48	24	48	25	42	20	39	21	42	18	44	20	41	17	39	19	38	18	43	21	46	22	45	21	43	21	40	22	43	20	40	19	42	23	
18	51	23	50	26	50	24	36	15	38	18	43	22	37	20	40	19	41	17	39	19	42	17	42	20	41	20	41	21	43	20	43	23	43	21	40	20	
19	48	21	45	24	44	21	39	21	35	17	35	17	42	21	41	20	39	18	40	19	40	20	42	20	43	20	43	22	40	20	42	22	44	23	41	21	
20	49	22	47	25	48	24																															
% GERM.	100						95						95						95						95						100						
Observaciones:	18 cotiledones verdes 18 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados. 2 mínimos						12 cotiledones verdes 2 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						13 cotiledones verdes 5 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						13 cotiledones verdes 8 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						15 cotiledones verdes 12 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						16 cotiledones verdes 16 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						

Legenda: CN: Control Negativo. H: Hipocótilo R: Radícula %GERM. : Porcentaje de germinación.



### 3.2.5. Resultado de Toxicidad del 1<sup>er</sup> muestreo del agua superficial de la Estación 6: E61

Para el bioensayo de toxicidad con *Lactuca sativa* (lechuga americana) se utilizó 100mL de la muestra recolectada el 23 de noviembre del 2015 y se realizó de acuerdo al procedimiento de la Etapa III. a.3 y a los datos registrados en la Cuadro 16. Ficha de Registro N°1 del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana)

#### 3.2.5.1. Para la evaluación y contrastación de la Hipótesis general:

**Hi:** Existe toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo *Lactuca sativa*.

**Ho:** No Existe toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo *Lactuca sativa*

Se realizó las siguientes pruebas estadísticas:

#### Prueba de ANOVA:

Se verificó que los datos del bioensayo con *Lactuca sativa* cumplían con los supuestos estadísticos como:

#### a1) Prueba de normalidad

#### a2) Prueba de homogeneidad de varianza

#### a1) Se realizó la prueba de normalidad para las mediciones de la raíz:

Ho: existe normalidad en las mediciones de la raíz de la *Lactuca sativa* del control negativo y en las diferentes concentraciones.

H1: NO existe normalidad en las mediciones de la raíz de la *Lactuca sativa* del control negativo y en las diferentes concentraciones.

Nivel de significación:  $\alpha = 0.05$

#### Prueba estadística:

Se utilizó la prueba de Shapiro wilk, por tratarse de muestras pequeñas.

Cuadro 17. Cuadro . Prueba de Normalidad para las mediciones de la raíz del 1er muestreo

FACTOR	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
RAIZ control	,170	20	,131	,916	20	,082
100%	,139	20	,200*	,951	20	,377
30%	,104	20	,200*	,970	20	,761
10%	,172	20	,125	,938	20	,216
3%	,158	20	,200*	,915	20	,080
1%	,085	20	,200*	,976	20	,871

**Criterio de decisión:**

Como P-value (Sig.) es mayor a :  $\alpha$  (0.05), se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ) en la prueba del control negativo y en las diferentes concentraciones (100%, 30%, 10%, 3%, 1%).

**Conclusiones:**

A un nivel de significancia del 5%, existe evidencia estadística para concluir que la prueba de control negativo y las concentraciones de 100%, 30%, 10%, 3% y 1% de las mediciones de la raíz tienen una distribución normal.

**a2) Se realizó la prueba de Homogeneidad de varianzas para las mediciones de la raíz:**

$H_0$ : Existe homogeneidad de varianza en la prueba control y las diferentes concentraciones.

$H_1$ : NO Existe homogeneidad de varianza en la prueba control y las diferentes concentraciones.

Nivel de significación:  $\alpha = 0.05$

**Prueba estadística:**

Cuadro 18. Cuadro . Prueba de Homogeneidad de varianzas para las mediciones de la raíz del 1er muestreo

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,804	5	114	,118

**Criterio de decisión:**

Como P-value (Sig.) es mayor a :  $\alpha$  (**0.05**), se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ), por lo tanto existe homogeneidad de varianzas.

**Conclusiones:**

A un nivel de significancia del 5%, existe evidencia estadística para concluir que existe homogeneidad de varianzas en la prueba del control negativo y en las diferentes concentraciones (100%, 30%, 10%, 3%, 1%) de las mediciones de la raíz.

**PRUEBA DEL ANOVA:**

Como se cumplen con los supuestos, se procede a realizar la prueba del ANOVA:

$H_0$ : todas las medias de las mediciones de la raíz de la prueba del control negativo y las concentraciones (100%, 30%, 10%, 3%, 1%) son iguales.

$H_1$ : Al menos una media de las mediciones de la raíz de la prueba control o las concentraciones (100%, 30%, 10%, 3%, 1%) es diferente de las demás.

**Prueba estadística:**

Cuadro 19. Cuadro . Prueba del ANOVA para las mediciones de la raíz del 1er muestreo

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	956,055	5	191,211	78,936	,000
Within Groups	276,149	114	2,422		
Total	1232,204	119			

**Criterio de decisión:**

Como P-value (Sig.) es MENOR a :  $\alpha$  (0.05), se RECHAZA la hipótesis nula (Ho), por lo tanto al menos una media es diferente de las demás.

**Conclusiones:**

A un nivel de significancia del 5%, existe evidencia estadística para concluir que al menos una media de la prueba control o las concentraciones es diferente de las demás.

Como se puede comprobar que al menos una de las medias es diferente de las prueba de control negativo, se procede a realizar la prueba de DUNNET, para verificar que media es diferente

**Prueba estadística:**

Cuadro 20. Cuadro . Prueba del Dunnet para las mediciones de la raíz del 1er muestreo

(I) FACTOR	(J) FACTOR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
100%	control	-6,9495000*	,4921744	,000	-8,203791	-5,695209
30%	control	-5,8325000*	,4921744	,000	-7,086791	-4,578209
10%	control	-2,8495000*	,4921744	,000	-4,103791	-1,595209
3%	control	-,4325000	,4921744	,849	-1,686791	,821791
1%	control	,0355000	,4921744	1,000	-1,218791	1,289791

**Conclusiones:**

Como P-value (Sig.) de la concentración del 100%, 30% y 10% es MENOR a  $\alpha$  (0.05), con respecto a la prueba control, se concluye que existe diferencias significativas.

Como P-value (Sig.) de la concentración del 3% y 1% es MAYOR a  $\alpha$  (0.05), con respecto a la prueba control, se concluye que NO existe diferencias significativas.

**Pruebas para hallar el Nivel de Toxicidad en el 1er. muestreo:****Intervalo de confianza**

NIVEL DE TOXICIDAD:

$$\bar{X} - t_{\alpha/2} \frac{\bar{S}}{\sqrt{n}} \leq \mu \leq \bar{X} + t_{\alpha/2} \frac{\bar{S}}{\sqrt{n}}$$

X = Promedio

S= Desviación estándar

$\alpha$  =0.05

t (1- $\alpha$ /2,n-1gl) Valor crítico de la distribución t

gl= grados de libertad

n= número de datos

**LIC( $\mu$  ; 95%)** = Límite Inferior de confianza:  
**LSC( $\mu$  ; 95%)** = Límite superior de confianza:

**Cuadro 21. Nivel de Toxicidad de las aguas superficiales de la E61 en el 1er. muestreo**

Concentración	Resultados a un nivel de confianza del 95%	Nivel de Toxicidad
100%	< -0.32 ; -0.25 >	Toxicidad moderada
30%	< -0.27 ; -0.20 >	Toxicidad moderada
10%	< -0.15 ; -0.07 >	Toxicidad baja
3%	< -0.06 ; -0.03 >	Toxicidad baja
1%	< -0.04 ; 0.04 >	Toxicidad baja

### 3.2.6. Resultado de Toxicidad del 2do. muestreo del agua superficial de la Estación 6: E61

Para el bioensayo de toxicidad con *Lactuca sativa* (lechuga americana) se utilizó 100mL de la muestra recolectada el 13 de diciembre del 2015 y se realizó de acuerdo al procedimiento 2.3.b. y a los datos registrados en la **Ficha de Registro N° 2** del Bioensayo de *Lactuca sativa*.

Se realizó las siguientes pruebas estadísticas:

#### **Prueba de ANOVA:**

Para la realización de la prueba de ANOVA, se verificó que los datos del bioensayo con *Lactuca sativa* cumplieran con los supuestos estadísticos como:

#### **a1) Prueba de normalidad**

#### **a2) Prueba de homogeneidad de varianza**

#### **a1) Se realizó la prueba de normalidad para las mediciones de la raíz:**

Ho: existe normalidad en las mediciones de la raíz de la *lactuca sativa* del control negativo y en las diferentes concentraciones.

H1: NO existe normalidad en las mediciones de la raíz de la *lactuca sativa* del control negativo y en las diferentes concentraciones.

Nivel de significación:  $\alpha= 0.05$

#### **Prueba estadística:**

Se utilizó la prueba de Shapiro wilk, por tratarse de muestras pequeñas.

Cuadro 22. Prueba de Normalidad para las mediciones de la raíz del 2do. muestreo

FACTOR		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
RAIZ2	Control	,120	20	,200*	,968	20	,712
	100%	,098	19	,200*	,970	19	,780
	30%	,121	19	,200*	,969	19	,752
	10%	,169	19	,158	,950	19	,388
	3%	,144	19	,200*	,965	19	,670
	1%	,133	20	,200*	,919	20	,093

**Criterio de decisión:**

Como P-value (Sig.) es mayor a :  $\alpha(0.05)$ , se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ) en la prueba del control negativo y en las diferentes concentraciones (100%, 30%, 10%, 3%, 1%).

**Conclusiones:**

A un nivel de significancia del 5%, existe evidencia estadística para concluir que la prueba de control negativo y las concentraciones de 100%, 30%, 10%, 3% y 1% de las mediciones de la raíz tienen una distribución normal.

**a2) Se realizó la prueba de Homogeneidad de varianzas para las mediciones de la raíz:**

$H_0$ : Existe homogeneidad de varianza en la prueba control y las diferentes concentraciones.

$H_1$ : NO Existe homogeneidad de varianza en la prueba control y las diferentes concentraciones.

Nivel de significación:  $\alpha = 0.05$

**Prueba estadística:**

Cuadro 23. Prueba de Homogeneidad de varianzas para las mediciones de la raíz del 2do. muestreo

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,303	5	110	,268

**Criterio de decisión:**

Como P-value (Sig.) es mayor a :  $\alpha(0.05)$ , se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ), por lo tanto existe homogeneidad de varianzas.

**Conclusiones:**

A un nivel de significancia del 5%, existe evidencia estadística para concluir que existe homogeneidad de varianzas en la prueba del control negativo y en las diferentes concentraciones (100%, 30%, 10%, 3%, 1%) de las mediciones de la raíz.

## PRUEBA DEL ANOVA:

Como se cumplen con los supuestos, se procede a realizar la prueba del ANOVA:

**H<sub>0</sub>:** todas las medias de las mediciones de la raíz de la prueba del control negativo y las concentraciones (100%, 30%, 10%, 3%, 1%) son iguales.

**H<sub>1</sub>:** Al menos una media de las mediciones de la raíz de la prueba control o las concentraciones (100%, 30%, 10%, 3%, 1%) es diferente de las demás.

Nivel de significación:  $\alpha = 0.05$

### Prueba estadística:

Cuadro 24. Prueba del ANOVA para las mediciones de la raíz del 2do. muestreo

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	487,151	5	97,430	58,358	,000
Within Groups	183,649	110	1,670		
Total	670,800	115			

### Criterio de decisión:

Como P-value (Sig.) es MENOR a :  $\alpha$  (**0.05**), se RECHAZA la hipótesis nula (H<sub>0</sub>), por lo tanto al menos una media es diferente de las demás.

### Conclusiones:

A un nivel de significancia del 5%, existe evidencia estadística para concluir que al menos una media de la prueba control o las concentraciones es diferente de las demás.

Como se puede comprobar que al menos una de las medias es diferente de las prueba de control negativo, se procede a realizar la prueba de DUNNET, para verificar que media es diferente.

### Prueba estadística:

Cuadro 25. Prueba del Dunnet para las mediciones de la raíz del 2do. muestreo

(I) FACTOR	(J) FACTOR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
100%	Control	-6,338368*	,413941	,000	-7,39503	-5,28170
30%	Control	-5,337842*	,413941	,000	-6,39451	-4,28118
10%	Control	-5,092053*	,413941	,000	-6,14872	-4,03539
3%	Control	-3,882579*	,413941	,000	-4,93925	-2,82591
1%	Control	-3,434000*	,408600	,000	-4,47703	-2,39097

### Conclusiones:

Como P-value (Sig.) de la concentración del 100%, 30%, 10%, 3% Y 1% es MENOR a  $\alpha$  (0.05), con respecto a la prueba control, se concluye que existe diferencias significativas y

que la toxicidad aumenta con la concentración de la muestra de agua de la Estación 6 del río Chillón.

### Pruebas para hallar el Nivel de Toxicidad en el 2do Muestreo:

#### Con la prueba de Intervalo de confianza.

Cuadro 26. Nivel de Toxicidad de las aguas superficiales de la E61 en el 1er. muestreo

Concentración	Resultados a un nivel de confianza del 95%	Nivel de Toxicidad
100%	< -0.30; -0.22 >	Toxicidad moderada
30%	< -0.25 ; -0.19 >	Toxicidad moderada
10%	< -0.23 ; -0.18 >	Toxicidad baja
3%	< -0.20 ; -0.11 >	Toxicidad baja
1%	< -0.17 ; -0.11 >	Toxicidad baja

Con los datos obtenidos estadísticamente se cumple la Hipótesis alternativa general: Existe toxicidad en las aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo *Lactuca sativa*. Estableciéndose en ambos muestreos Toxicidad moderada a las concentraciones del 100% y 30%. En las demás concentraciones tienen toxicidad baja.

### 3.2.7. Resultados y constratación de las hipótesis específicas:

#### 3.2.7.1. Hipótesis específicas 1:

Ho1: Los parámetros fisicoquímicos in situ de la muestra de agua en la Estación 6 no están dentro de los ECAs del agua.

Ha1: Los parámetros fisicoquímicos in situ de la muestra de agua en la Estación 6 están dentro de los ECAs del agua.

Cuadro 27. Evaluación de parámetros fisicoquímicos de los 2 muestreos de las E61

PARAMETROS FISICOS QUIMICOS	1er. Muestreo (23 /11/15)	2do. muestreo (23 /11/15)	ECAS (Categoría 1 A2)(47,48)
pH	7.95	7.93	5.5 – 9
Turbiedad (UNT)	31.3	11.28	100
Temperatura (°C)	27.3 °C	23.8 °C	-
Conductividad (µS/cm)	1184	933	1600
Oxígeno Disuelto (ppm)	4.91	4.95 mg/L	>=5
Porcentaje de Saturacion(%)	60.3%	60.10%	

Del cuadro podemos determinar que los parámetros fisicoquímicos evaluados en las 2 muestras de agua in situ se encuentran dentro de los ECAs, teniendo en consideración que el de oxígeno disuelto es ligeramente menor al establecido, por lo que se acepta la hipótesis alternativa:

Los parámetros fisicoquímicos in situ de la muestra de agua en la Estación 6 están dentro de los ECAs del agua.

**3.2.7.2. Resultados Hipótesis específicas 2, 3 y 4 para el 1er. y 2do. muestreo:**

**a. Hipótesis específica 2**

Ho2: No existe inhibición en la elongación de la radícula de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

Ha2: Existe inhibición en la elongación de la radícula de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

**b. Hipótesis específica 3**

Ho3: No existe inhibición en la elongación del hipocótilo de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

Ha3: Existe inhibición en la elongación del hipocótilo de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

**c. Hipótesis específica 4**

Ho4: No existe inhibición en la germinación de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

Ha4: Existe inhibición en la germinación de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.

Para la verificación de estas hipótesis, se realizó las siguientes pruebas estadísticas:

**d. Para la contrastación de la Hipótesis específicas 2 se utilizó el Intervalo de confianza para determinar el Porcentaje de inhibición en la elongación de la radícula (%IER) del 1er. y 2do. muestreo.**

Los datos han sido elaborados a partir de la Ficha de Registro N°1 y N°2 del Bioensayo de *Lactuca sativa* y se encuentra en ANEXOS (Cuadro 31 Registro de Porcentajes de inhibición del bioensayo *Lactuca sativa* para el 1er muestreo y Cuadro 32. Registro de Porcentajes de inhibición del bioensayo *Lactuca sativa* para el 2do. Muestreo.



**Cuadro 28. %IER del 1er. y 2do muestreo de aguas E61**

Concentración (%)	1er. muestreo		2do. Muestreo	
	Promedio (%)	Resultados de %IER a un intervalo de confiabilidad del 95%	Promedio (%)	Resultados de %IER a un intervalo de confiabilidad del 95%
100%	28,38	< 25,13 -31,62 >	25,63	< 21,62 - 29,54 >
30%	23,69	< 20,11 -27,27 >	21,63	< 18,56 - 24,69 >
10%	11,38	< 7,44 -15,33 >	20,68	< 18,26 - 23,10 >
3%	1,39	< -2,71 -5,50 >	15,48	< 10,75 - 20,22 >
1%	-0,38	< -4,31 - 3,56 >	13,68	< 10,78 - 16,59 >

**Se acepta la hipótesis específica 2:** Existe inhibición en la elongación de la radícula de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón. En ambos muestreos hay un porcentaje de inhibición de la radícula, difiere en la primera quizás por la mayor cantidad de sales disueltas (conductividad de 1184us/cm en el 1er. muestreo y de 933us/cm en el 2do. muestreo).

**e. Para la contrastación de la Hipótesis específicas 2 se utilizó el Intervalo de confianza para determinar el Porcentaje de inhibición en la elongación del hipocótilo (%IEH) del 1er. y 2do. muestreo.**

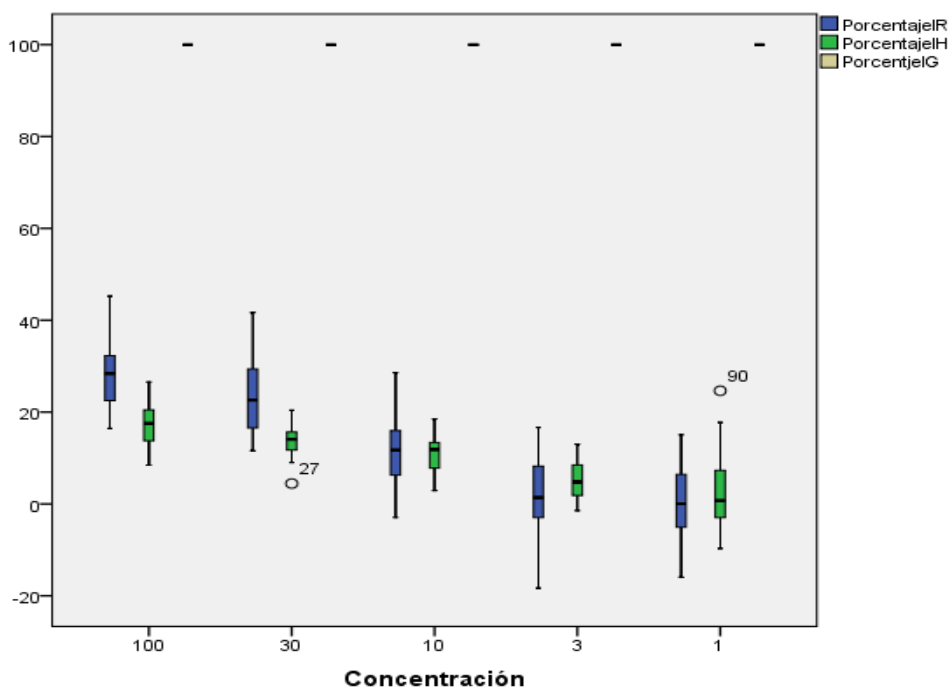
Los datos han sido elaborados a partir de la Ficha de Registro N°1 y N°2 del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana) y se encuentra en el Anexo del Cuadro 13 Registro de Porcentajes de inhibición del bioensayo *Lactuca sativa* para el 1er muestreo y Cuadro 29. Registro de Porcentajes de inhibición del bioensayo *Lactuca sativa* para el 2do. muestreo.

**Cuadro 30. %IEH del 1er. y 2do muestreo de aguas E61**

Concentración (%)	1er. muestreo		2do. Muestreo	
	Promedio (%)	Resultados de %IER a un intervalo de confiabilidad del 95%	Promedio (%)	Resultados de %IER a un intervalo de confiabilidad del 95%
100%	17,04	< 14,72 - 19,35 >	16,00	< 13,25 -18,69 >
30%	13,69	< 11,91 - 15,47 >	15,25	< 13,09 - 17,41 >
10%	10,79	< 8,75 -12,82 >	9,66	< 6,40 - 12,93 >
3%	5,32	< 3,46 - 7,18 >	8,82	< 6,82 - 10,82 >
1%	2,39	< -1,60 - 6,39 >	7,04	< 4,61 - 9,47 >

**Se acepta la hipótesis específica 3:** Existe inhibición en la elongación del hipocótilo de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón. En ambos muestreos hay un porcentaje de inhibición del hipocótilo, menores que en los de la radícula.

Figura 12. Comparación del % de inhibición de la radícula, % de inhibición del hipocótilo



#### f. Resultados de la Hipótesis específicas 4 para el 1er. y 2do. muestreo:

En ambos muestreos la germinación de las semillas de *Lactuca sativa* fue mayor del 90% por lo que se acepta la Ha4: Existe inhibición en la germinación de *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón pero mínima.

#### 3.2.7.3. Respuesta de la Hipótesis específicas 5 Para el 1er y 2do. muestreo:

Ho5: No existe efectos fitotóxicos en el desarrollo de la germinación de la *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?

Ha5: ¿existe efectos fitotóxicos en el desarrollo de la germinación de la *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?

- Se realizó la **prueba CHI CUADRADO:  $X^2$**  para el 1er muestreo.

#### Tabla de contingencia:

Características morfológicas	Control y concentraciones					
	CONTROL	100%	30%	10%	3%	1%
Cotiledones verdes	18	11	14	13	15	16
Pelos absorbentes	18	3	6	11	14	15

Se realizó las siguientes hipótesis:

Ho: las características morfológicas son independientes en las diferentes concentraciones y control de las muestras de agua

H1: las características morfológicas NO son independientes en las diferentes concentraciones y control de las muestras de agua

Nivel de significación:  $\alpha = 0.05$

Prueba estadística:

VALORES

OBSERVADOS

Características morfológicas	Control y concentraciones						TOTAL
	CONTROL	100%	30%	10%	3%	1%	
Cotiledones verdes	18	11	14	13	15	16	87
Pelos absorbentes	18	3	6	11	14	15	67
TOTAL	36	14	20	24	29	31	154

VALORES

ESPERADOS

Características morfológicas	Control y concentraciones					
	CONTROL	100%	30%	10%	3%	1%
Cotiledones verdes	20,3377	7,9091	11,2987	13,5584	16,3831	17,5130
Pelos absorbentes	15,6623	6,0909	8,7013	10,4416	12,6169	13,4870

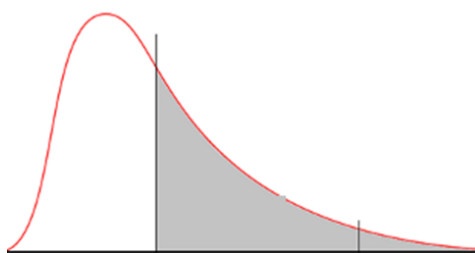
$$\chi^2 = \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

Donde:

oi: valores observados

ei: valores esperados

**Determinamos  $\chi^2 = 5,5$**



$$\chi^2_{tab} = \chi^2 (1-\alpha, (fila - 1) * (columna - 1) gl) = \chi^2 (0.95, 5gl) =$$

**1,15**

Como  $\chi^2$  calculado es mayor que  $\chi^2$  tabulado ( $5,50 > 1,15$ ) se rechaza  $H_0$ , es decir las características morfológicas NO son independientes en las diferentes concentraciones y control negativo.

f.2. Se realizó la prueba CHI CUADRADO: X<sup>2</sup> para el 2do. muestreo.

**Tabla de contingencia:**

Características morfológicas	Control y concentraciones					
	CONTROL	100%	30%	10%	3%	1%
Cotiledones verdes	18	12	13	13	15	16
Pelos absorbentes	18	2	5	8	12	16

Se realizó las siguientes hipótesis:

H<sub>0</sub>: las características morfológicas son independientes en las diferentes concentraciones y control negativo de las muestras de agua

H<sub>1</sub>: las características morfológicas NO son independientes en las diferentes concentraciones y control negativo de las muestras de agua

Nivel de significación:  $\alpha = 0.05$

Prueba estadística:

VALORES  
OBSERVADOS

Características morfológicas	Control y concentraciones						TOTAL
	CONTROL	100%	30%	10%	3%	1%	
Cotiledones verdes	18	12	13	13	15	16	87
Pelos absorbentes	18	2	5	8	12	16	61
TOTAL	36	14	18	21	27	32	148

VALORES  
ESPERADOS

Características morfológicas	Control y concentraciones					
	CONTROL	100%	30%	10%	3%	1%
Cotiledones verdes	21,1622	8,2297	10,5811	12,3446	15,8716	18,8108
Pelos absorbentes	14,8378	5,7703	7,4189	8,6554	11,1284	13,1892

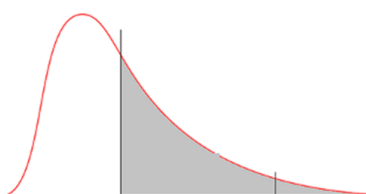
$$\chi^2 = \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

Donde:

o<sub>i</sub>: valores observados

e<sub>i</sub>: valores esperados

**Determinamos X<sup>2</sup> = 7,9**



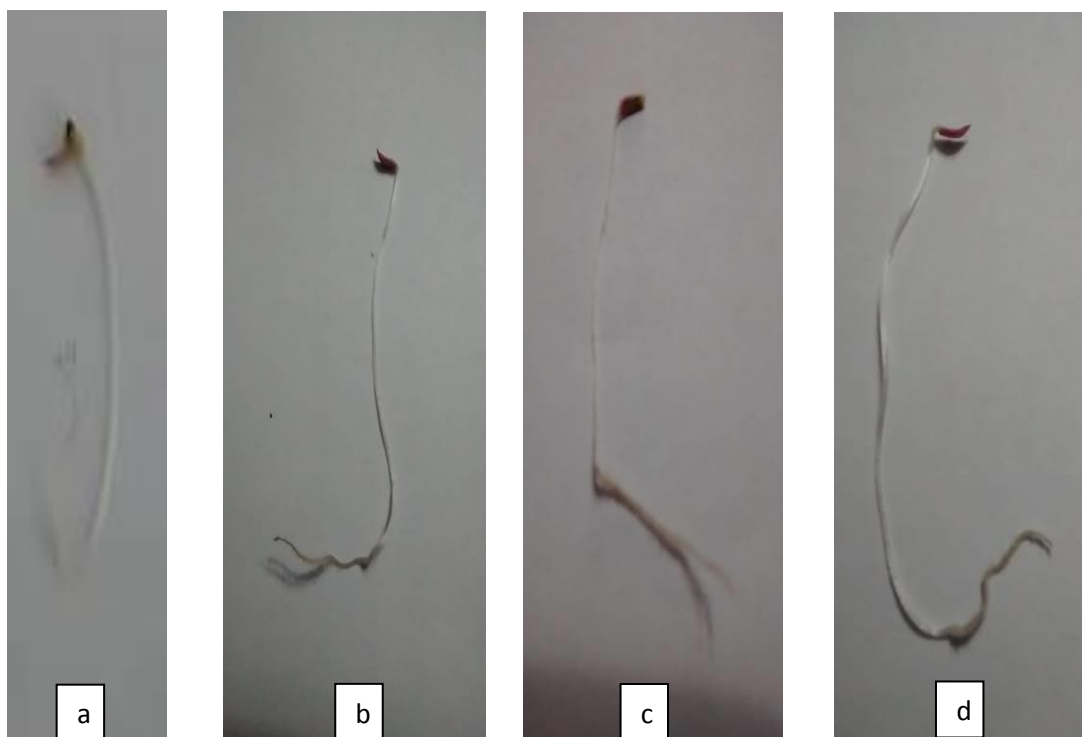
$$X^2_{tab} = X^2 (1-\alpha, (fila - 1) * (columna - 1) gl) = X^2 (0.95, 5gl) =$$

**1,15**

Como  $X^2$  calculado es mayor que  $X^2$  tabulado ( $7,90 > 1.15$ ) se rechaza  $H_0$ , es decir las características morfológicas NO son independientes en las diferentes concentraciones y control negativo.

### Conclusión

**Se cumple la hipótesis alternativa 5 (Ha5): existe efectos fitotóxicos en el desarrollo de la germinación de la *Lactuca sativa* en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.**



**Figura 5. Efectos fitotóxicos en la germinación de la *Lactuca sativa* :** a) C1=100%: Los cotiledones con su cascarrilla, ensortijados, sin pelos absorbentes. b) C2=30%: Los cotiledones con su cascara, sin pelos absorbentes. c) C3=10%: Los cotiledones con su cascara, con pelos absorbentes d) C4=3%: Los cotiledones con su cascara, con poco pelos absorbentes.

Hay mayores diferencias morfológicas en las diluciones de mayor concentración, específicamente 100% y 30%.

## CAPITULO V

### DISCUSIÓN DE RESULTADOS

1. La evaluación de la toxicidad de las aguas superficiales de la Estación 6 (E61) del río Chillón se realizó determinando el Índice de toxicidad con respecto a la inhibición de la elongación de la raíz (IER), porque la germinación de las semillas en casi todas las muestras fueron del 100%. El índice de toxicidad respecto a la IER en los 2 muestreos a las concentraciones del 100% y 30% están en el rango de  $< -0.25 \text{ a } -0.5 >$  que de acuerdo a la clasificación utilizada por Rodríguez y col. se encuentran dentro del rango de Toxicidad moderada, siendo estadísticamente significativas. Y a las concentraciones del 10%, 3%, y 1% fueron clasificadas como Toxicidad baja.
2. Los resultados de Toxicidad moderada de las aguas de la Estación 6 del río Chillón demuestran que existe contaminación por tóxicos en el cuerpo de agua debido a los efluentes de las diferentes industrias informales existentes, como lo han reportado Aliaga M. (2010) en su tesis y DIGESA (2011). Los bioensayos resultan herramientas útiles para evaluar la calidad del cuerpo de agua, y utilizarse para análisis rápidos y pueden ser de fácil implementación, que utilizados por la autoridad competente podría elevar informes técnicos que permitan sancionar a las empresas que no cumplen con eliminar sus efluentes sin antes realizar su tratamiento.
3. Los resultados del Índice de Toxicidad con respecto a Inhibición de la Elongación de la raíz (IER) en los 2 muestreos a las concentraciones del 100% y 30% fueron negativos y de acuerdo a la investigaciones de Torres M. y Hernández N.; y Poi de Neiff, A. y Ramos, A., son consideradas tóxicas.
4. Los parámetros fisicoquímicos evaluados in situ se encuentran dentro de los ECAs del agua, pero son análisis insuficientes para determinar la salud del ecosistema, la mayoría de las empresas sólo se preocupan por mantener el pH dentro de los parámetros del ECAs, pero los efluentes con metales pesados y tóxicos en general, que eliminan a los cuerpos de agua

necesitan de análisis costosos para su determinación y son los más dañinos, pero los bioensayos de toxicidad nos permiten evaluar los riesgos potenciales del ecosistema aún a bajas concentraciones de estos tóxicos.

5. En la investigación presente hubo disminución del crecimiento radicular similar a los resultados de la Estación 4 (E4) de los Estudios de Rodríguez y col., el cual atribuye los resultados asociados a la acumulación de compuestos lixiviados, en nuestro caso sería por los efluentes de las diversas empresas clandestinas industriales que se encuentran en la zona aledaña a la ribera del río.
6. El promedio de la CI<sub>50r</sub> del sulfato de Zinc, control positivo utilizado para medir la sensibilidad de las semillas de *Lactuca sativa* fue de 28,33ppm, similar a los reportados por las investigaciones de Bohórquez-Echeverry P., Campos-Pinilla C.(2007) de 24,48ppm. Las semillas utilizadas en el estudio resultaron más resistentes porque no produjeron inhibición de la germinación, pero si inhibición de la elongación de la radícula y del hipocótilo que demuestra que se puede evaluar toxicidad de las aguas superficiales de la Estación 6 con este bioensayo, ya que estas semillas presentan respuestas biológicas a diferentes concentraciones de cualquier compuesto químico presente o una mezcla de ellos.
7. En los estudios realizados comprobamos como la muestra pura del muestreo de las aguas superficiales de la Estación 6 al 100% y a una concentración al 30% principalmente se produce una inhibición de la radícula en los siguientes intervalos <20,11% a 31,62%>, siendo con respecto al hipocótilo <11,91% a 19,35%> más sensible, similares resultados lo obtuvieron Gonzáles y col., así como los efectos fitotóxicos que evaluamos fueron de similares resultados: hipocótilo corto y grueso, radícula corta o larga sin pelos absorbentes, que va en aumento en las concentraciones más altas. A mayor concentración se encontró mayores efectos fitotóxicos en mayor número de semillas.
8. Con respecto a la germinación de semillas se obtuvo diferentes resultados a Gonzales y col., ellos obtuvieron una CI<sub>50</sub>: 52,7 % y en nuestra investigación se obtuvo el 100% en el 1er. Muestreo y 95% en el 2do. Muestreo, que puede ser porque la *Lactuca sativa* es un buen acumulador

de tóxicos y que permiten el desarrollo pero con anomalías en su crecimiento y porque las semillas utilizadas son más resistentes.

9. La metodología utilizada fue la sugerida por los protocolos Castillo G. en su libro: Los ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Se utilizó 4 diluciones y una muestra pura que nos permitió tener un rango mayor para el análisis de toxicidad.
10. Para nuestro bioensayo se determinó que el crecimiento de la radícula como punto final de lectura era más sensible a la toxicidad que la germinación de las semillas, los resultados destacan la importancia de medir a la vez ambos efectos, letal (porcentaje de germinación de las semillas con relación al control negativo) y subletal (inhibición de la prolongación de la radícula) como lo realizaron Torres M. y Hernandez N.



## CONCLUSIONES

Según los objetivos planteados en la investigación se llegaron a conclusiones siguientes:

1. A un nivel de confianza del 95%, el Índice de toxicidad de las aguas superficiales en los 2 muestreos resultaron de Toxicidad Moderada al 100% y 30%, siendo los de valores más altos los del 1er. Muestreo que reportaron a una concentración al 100% el Índice de toxicidad en el intervalo de  $< -0.32 ; -0.21 >$ , a una concentración del 30%  $< -0.273 ; -0.201 >$ , las otras concentraciones determinadas fueron de Toxicidad baja.
2. Los parámetros fisicoquímicos in situ en los 2 muestreos de noviembre y diciembre estuvieron dentro de las ECAs del agua. El 1er. Muestreo: pH: 7.95, turbiedad: 31.3 UNT, Temperatura del agua: 27.3°C, la conductividad de 1184 uS/cm, el Oxígeno disuelto de 4.91. El 2do. muestreo: pH: 7.93, turbiedad: 11.28 UNT, Temperatura del agua: 23.8°C, la conductividad de 933 uS/cm, el Oxígeno disuelto de 4.91.
3. El % de inhibición de la radícula en los 2 muestreos fue mayor en la muestra de agua de la E61 al 100%: 28,38% y 25,63% y la muestra de agua al 30%: 23,69% y 21,63%, entre los que tuvieron mayor porcentaje de inhibición, ninguno fue mayor del 50%.
4. El % de inhibición del hipocótilo en los 2 muestreos fue mayor en la muestra de agua de la E61 al 100%: 17,04% y 16,00%, y la muestra de agua al 30%: 13,69% y 15,25, entre los que tuvieron mayor porcentaje de inhibición, ninguno fue mayor del 50%.
5. El porcentaje de germinación fue del 100% en el 1er muestreo en todas las diferentes concentraciones y en el 2do. Muestreo fue 100% en la concentración de 1%, el resto el porcentaje de germinación fue del 95%.
6. Los efectos fitotóxicos se evidenciaron en ambas muestras de los 2 muestreos realizados. Determinándose que a mayor porcentaje de concentración de la muestra de agua mayores efectos fitotóxicos.

## **SUGERENCIAS**

1. Se recomienda continuar realizando este tipo de estudios orientados a determinar el nivel de toxicidad en toda la cuenca del río Chillón y en control de efluentes.
2. Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian la utilidad de las pruebas de toxicidad como herramienta para la evaluación del nivel de toxicidad de cuerpos de agua y que podrían ser implementados por las instituciones de las autoridades competentes del Sector Salud para evaluar y dar un informe técnico real en sus inspecciones y no sólo ser observacional.
3. Desarrollar un método simple y de aplicación continua y que sea exigible por nuestra normativa para poder exigir a las empresas que garanticen la calidad de sus efluentes.
4. Evitarse el uso de tierras agrícolas en las cercanías del río ya que los riegos con estas aguas pueden ser potencialmente riesgosas para la salud de la población.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Olarte Navarro B. La cuenca del río Chillón: Problemática y potencial productivo [Internet]. 2012 [citado 3 de enero de 2016]. Disponible en: [http://fresno.ulima.edu.pe/sf%5Csf\\_bdfde.nsf/imagenes/9A5B9CD541FA1720052573540070AE16/\\$file/03-25-olarte.pdf](http://fresno.ulima.edu.pe/sf%5Csf_bdfde.nsf/imagenes/9A5B9CD541FA1720052573540070AE16/$file/03-25-olarte.pdf)
2. DIGESA, MINSA. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SANITARIA DE LAS AGUAS DEL RÍO CHILLÓN - 20 11 [Internet]. [www.digesa.minsa.gob.pe](http://www.digesa.minsa.gob.pe). [citado 3 de enero de 2016]. Disponible en: [http://www.digesa.minsa.gob.pe/depa/rios/2011/RIO\\_CHILLON\\_2011.pdf](http://www.digesa.minsa.gob.pe/depa/rios/2011/RIO_CHILLON_2011.pdf)
3. Reyes Cubas CM. ESTUDIO DE LA CONTAMINACIÓN DE LA AGUAS DEL RÍO CHILLÓN [Internet]. 2012 [citado 27 de diciembre de 2015]. Disponible en: [http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/1082/1/reyes\\_cc.pdf](http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/1082/1/reyes_cc.pdf)
4. Aliaga Martinez MP. SITUACIÓN AMBIENTAL DEL RECURSO HÍDRICO EN LA CUENCA BAJA DEL RIO CHILLON Y SU FACTIBILIDAD DE RECUPERACIÓN PARA EL DESARROLLO SOSTENIBLE [Internet]. 2010 [citado 28 de diciembre de 2015]. Disponible en: [http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/645/1/aliaga\\_mm.pdf](http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/645/1/aliaga_mm.pdf)
5. MUNICIPALIDAD METROPOLITANA DE LIMA, INSTITUTO METROPOLITANO DE PLANIFICACION. PLAN INTEGRAL DE LA CUENCA CHILLON, INTERCUENCAS LA PAMPILLA, VENTANILLA, SANTA ROSA Y ANCON Y LA ZONA MARITIMA COSTERA CALLAO-PASAMAYO. PLAN DE ORDENAMIENTO TERRITORIAL (POT CUENCA CHILLON) CAPITULO IV: DIAGNOSTICO DE LOS FACTORES ECOLÓGICOS FISICOS DE LA CUENCA CHILLON [Internet]. 2014 [citado 6 de enero de 2016]. Disponible en: [http://sitr.regioncallao.gob.pe/sitedt/doc/rio\\_chillon2014/4%20CAPITULO%20IV%20FISICO%20CHILLON%204.1%20a%204.9%20222222.pdf](http://sitr.regioncallao.gob.pe/sitedt/doc/rio_chillon2014/4%20CAPITULO%20IV%20FISICO%20CHILLON%204.1%20a%204.9%20222222.pdf)
6. MINAM. Aprueban los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua/D.S. N° 002-2008-MINAM [Internet]. Diario Oficial El Peruano. 2008 [citado 3 de enero de 2016]. Disponible en: <http://www.minem.gob.pe/minem/archivos/file/DGGAE/ARCHIVOS/LEGISLACION/DS002-2008.pdf>
7. Sobrero MC. ESTUDIO DE LA FITOTOXICIDAD DE METALES PESADOS Y DE L HERBICIDA GLIFOSATO EN AMBIENTES ACUÁTICOS. BIOENSAYOS CON PLANTAS VASCULARES COMO ORGANISMOS DIAGNÓSTICO. [ Tesis doctoral] . La Plata: Universidad de La Plata [Internet]. 2010 [citado 3 de enero de 2016]. Disponible en: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/5246/Documento\\_completo.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/5246/Documento_completo.pdf?sequence=1)
8. Capó M. Principios de ecotoxicología: Diagnóstico, tratamiento y Gestión del medio ambiente. 1era edición. Madrid: TÉBAR; 2007. 320 p.

9. Zaggato P, Bertoletti E. Ecotoxicología Acuática: Principios e aplicações. 2da edición. São Carlos: RiMA; 2014. 486 p.
10. Planes E, Fuchs J. CUALES SON LOS APORTES DE LA ECOTOXICOLOGÍA A LAS REGULACIONES AMBIENTALES. Ciencia e Investigación. TOMO 65 N°2. [Internet]. [citado 7 de enero de 2016]. Disponible en: <http://aargentinatpencias.org/2/images/RevistasCel/tomo65-2/5-Planes-cei65-2-5.pdf>
11. RODRÍGUEZ ROMERO A, ROBLES S, Ruíz R, López E, Sedeño J, Rodríguez A. ÍNDICES DE GERMINACIÓN Y ELONGACIÓN RADICAL DE Lactuca sativa EN EL BIOMONITOREO DE LA CALIDAD DEL AGUA DEL RIO CHALMA. Rev. Int. Contam. Ambie. 30 (2) 307-316. [Internet]. [citado 30 de diciembre de 2015]. Disponible en: [http://www.atmosfera.unam.mx/editorial/rica/acervo/vol\\_30\\_3/10-Rodriguez.pdf](http://www.atmosfera.unam.mx/editorial/rica/acervo/vol_30_3/10-Rodriguez.pdf)
12. González Pérez Y, Marcos Albear E, Pérez Garrido N, Marín Sánchez D, Argota Pérez G. Aplicación de un bioensayo ecotoxicológico en la evaluación de una mezcla compleja ambiental [Internet]. 2012 [citado 29 de diciembre de 2015]. Disponible en: [http://www.salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc51542cb0968d0\\_Hig.Sanid.Ambient.12.\(1\).839-845.\(2012\).pdf](http://www.salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc51542cb0968d0_Hig.Sanid.Ambient.12.(1).839-845.(2012).pdf)
13. Torres M, Hernández N. Determinación toxicológica en aguas de río mediante el empleo de un bioensayo con planta. Higiene y Sanidad Ambiental, 9:505 - 509. [Internet]. 2009 [citado 6 de enero de 2016]. Disponible en: [http://www.salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc5101915f34e4d\\_Hig.Sanid.Ambient.9.505-509\(2009\).pdf](http://www.salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc5101915f34e4d_Hig.Sanid.Ambient.9.505-509(2009).pdf)
14. Bohórquez E, Campos C. EVALUACIÓN DE Lactuca sativa Y Selenastrum capricornutum COMO INDICADORES DE TOXICIDAD EN AGUAS. Universitas Scientiarum. Vol 12, N° 2. [Internet]. 2007 [citado 7 de enero de 2016]. Disponible en: <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4868>
15. Poi de Neiff A, Ramos A. Utilización de bioensayos para el estudio ecotoxicológico de los ríos Salado y Negro (Chaco, Argentina) [Internet]. [citado 27 de diciembre de 2015]. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2001/6-Biologicas/B-019.pdf>
16. Lallana V, Lallana M del C, Elizalde J, Billard C, Sabattini R, Muzzachiodi N. Caracterización Ambiental de Represas para Riego en Entre Ríos. II Jornadas REdVITEC. Facultad de Ciencias Agropecuarias-Universidad Nacional de Entre Ríos. [Internet]. 2008 [citado 7 de enero de 2016]. Disponible en: [http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/WEBFV\\_2010/FVpdf/84.pdf](http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/WEBFV_2010/FVpdf/84.pdf)
17. Restrepo Manrique R, Ortiz Villamizar M, Reyes Quesada D. Pruebas de ecotoxicidad para establecer el potencial genotóxico del hipoclorito de sodio, mediante bulbos de cebolla Allium cepa L y semillas de lechuga Lactuca

- Sativa L como bioindicadores - Dialnet [Internet]. 2011 [citado 24 de enero de 2016]. Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4991543>
18. Silbergeld E. Toxicología [Internet]. [citado 16 de enero de 2016]. Disponible en: [http://www.cso.go.cr/tematicas/higiene/agentes/quimico/03\\_toxicologia.pdf](http://www.cso.go.cr/tematicas/higiene/agentes/quimico/03_toxicologia.pdf)
  19. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Guia Practica Para la Exportacion a EE.UU: Berenjena [Internet]. 2007; [citado 8 de enero de 2016]. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books/about/Guia\\_Practica\\_Para\\_la\\_Exportacion\\_a\\_EE\\_U.html?id=ajO47BRCCZwC](https://books.google.com.pe/books/about/Guia_Practica_Para_la_Exportacion_a_EE_U.html?id=ajO47BRCCZwC)
  20. Biblioteca\_virtual\_ciencia. Manual\_apio\_lechuga\_II. [Internet]. [citado 8 de enero de 2016]. Disponible en: [http://www.mag.go.cr/biblioteca\\_virtual\\_ciencia/manual\\_apio\\_lechuga\\_II.pdf](http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/manual_apio_lechuga_II.pdf)
  21. Lechuga - Lechuga.pdf [Internet]. [citado 16 de octubre de 2016]. Disponible en: <http://www.hort.unlu.edu.ar/sites/www.hort.unlu.edu.ar/files/site/Lechuga.pdf>
  22. Curtis A. Fisiología Vegetal - Guiadeestudio-Germinacion.pdf [Internet]. 2013 [citado 16 de enero de 2016]. Disponible en: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Guiadeestudio-Germinacion.pdf>
  23. Torres Rodríguez M. Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. V. 41. [Internet]. 2003 [citado 24 de enero de 2016]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-30032003000200009&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032003000200009&lng=es)
  24. Castillo Morales G. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas [Internet]. 2004 [citado 28 de diciembre de 2015]. Disponible en: [http://www.idrc.ca/EN/Resources/Publications/openebooks/147-7/index.html#page\\_79](http://www.idrc.ca/EN/Resources/Publications/openebooks/147-7/index.html#page_79)
  25. PROTOCOLO DE MONITOREO DE LA CALIDAD DE LOS RECURSOS HIDRICOS AUTORIDAD NACIONAL DEL AGUA – DGCRH. Ministerio de Agricultura. Autoridad Nacional del Agua. [Internet]. 2011 [citado 7 de enero de 2016]. Disponible en: [http://www.gwp.org/Global/GWP-SAm\\_Files/Publicaciones/Varios/2011-PROTOCOLO-ANAPeru.pdf](http://www.gwp.org/Global/GWP-SAm_Files/Publicaciones/Varios/2011-PROTOCOLO-ANAPeru.pdf)
  26. Protocolo-Nacional-Monitoreo de la Calidad en cuerpos naturales de agua superficial. Autoridad Nacional del Agua (ANA) [Internet]. 2011 [citado 7 de enero de 2016]. Disponible en: <http://www.senace.gob.pe/download/senacenormativa/NAT-3-5-04-Protocolo-Nacional-Monitoreo.pdf>
  27. Castillo M. G. ENSAYOS TOXICOLÓGICOS Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE CALIDAD DE AGUAS ESTANDARIZACIÓN, INTERCALIBRACIÓN, RESULTADOS Y APLICACIONES [Internet].

Disponible en: <http://www.idrc.ca/EN/Resources/Publications/openebooks/147-7/index.html>

28. Presidencia del Consejo de Ministros – PCM. Ley General del Ambiente. Ley 28611. [Internet]. [citado 8 de enero de 2016]. Disponible en: [http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2013/10/ley\\_general\\_del\\_ambiente\\_ley\\_28611.pdf](http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2013/10/ley_general_del_ambiente_ley_28611.pdf)
29. LEY DE RECURSOS HÍDRICOS. Ministerio de Agricultura. Autoridad Nacional del Agua. [Internet]. 2009 [citado 7 de enero de 2016]. Disponible en: <http://www.ana.gob.pe/media/316755/leyrh.pdf>
30. Congreso de la República. Aprueban Reglamento de la Ley N° 29338, Ley de Recursos Hídricos / DECRETO SUPREMO N° 001-2010. [Internet]. 2010 [citado 7 de enero de 2016]. Disponible en: [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3\\_uibd.nsf/3A3ECB03A47C0C2A0525797B007588DC/\\$FILE/2\\_DECRETO\\_SUPREMO\\_001\\_2010\\_AG.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/3A3ECB03A47C0C2A0525797B007588DC/$FILE/2_DECRETO_SUPREMO_001_2010_AG.pdf)
31. Reglamento de la Ley de Recursos Hídricos N° 29338. Ministerio de Agricultura. Autoridad Nacional del Agua. [Internet]. 2010 [citado 7 de enero de 2016]. Disponible en: <http://www.ana.gob.pe/media/1097010/reglamento%20lrh%20-%20n%C2%BA%2029338.pdf>
32. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS [Internet]. 2006 [citado 27 de diciembre de 2015]. Disponible en: <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9720801e.pdf?expires=1451254621&id=id&accname=guest&checksum=77F0D614C9D89215AC2B13DE68F22CF6>
33. Ramírez Romero P, Mendoza Cantú A. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México. ISBN: 978-968-817-882-9. [Internet]. 2008 [citado 24 de enero de 2016]. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/download/573.pdf>
34. Acosta C. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE INHIBICIÓN MEDIA (CE50-120) DEL BORO Y COBALTO MEDIANTE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD ACUÁTICA SOBRE SEMILLAS DE LECHUGA (LÁCTUCA SATIVA L.) Universidad Militar Nueva Granada. [Internet]. [citado 7 de enero de 2016]. Disponible en: <http://repository.unimilitar.edu.co:8080/bitstream/10654/10954/1/ARTICULO%20FINAL.pdf>
35. Sobrero MC, Ronco A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. [Internet]. [citado 28 de diciembre de 2015]. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/573/cap4.pdf>
36. Morales GC. Ensayos Toxicológicos Y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. 1era. Mexico: IDRC; 2004. 190 p.
37. Marín R. Procesos fisicoquímicos en depuración de aguas: Teoría, práctica y problemas resueltos. 1era edición. España: Díaz de Santos; 2012. 341 p.

38. Reinoso J. «DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD DEL ALUMINIO PRESENTE EN EL SISTEMA DE ALCANTARILLADO DE AGUAS RESIDUALES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE UCUBAMBA DE LA CIUDAD DE CUENCA». Tesis de Maestría. Toxicología Industrial y Ambiental. Cuenca [Internet]. 2014 [citado 12 de enero de 2016]. Disponible en: [http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/19862/1/TESIS%20\(24\).pdf](http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/19862/1/TESIS%20(24).pdf)
39. Sierra C. Calidad del agua : Evaluación y diagnóstico. 1era edición. Bogotá: Ediciones de la U; 2011. 457 p.
40. DUARTE CASTRO DE. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE INHIBICIÓN MEDIA (CE50) DE COBRE Y NIQUEL PARA LA SEMILLA LACTUCA SATIVA MEDIANTE ENSAYOS DE TOXICIDAD. Tesis de grado. [Internet]. 2009 [citado 28 de febrero de 2016]. Disponible en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/14030/T41.09%20D85d.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
41. RESPUESTAS DE TOXICIDAD DE BIOENSAYOS EMPLEADOS EN LA EVALUACIÓN DE AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA. [Internet]. [citado 7 de enero de 2016]. Disponible en: [http://www.uaemex.mx/Red\\_Ambientales/docs/memorias/Extenso/TA/EO/TAO-57.pdf](http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/TA/EO/TAO-57.pdf)
42. Vincent K. Probit Analysis [Internet]. [citado 18 de enero de 2016]. Disponible en: <http://userwww.sfsu.edu/efc/classes/biol710/probit/ProbitAnalysis.pdf>
43. [MÓNICA ABAD TERÁN] - tesis.pdf.pdf [Internet]. [citado 6 de enero de 2016]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/tesis.pdf.pdf>
44. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. [Internet]. 2006 [citado 9 de enero de 2016]. Disponible en: [https://investigar1.files.wordpress.com/2010/05/1033525612-mtis\\_sampieri\\_unidad\\_1-1.pdf](https://investigar1.files.wordpress.com/2010/05/1033525612-mtis_sampieri_unidad_1-1.pdf)
45. Rojas A. DISEÑOS EXPERIMENTALES (1) [Internet]. Scribd. 2011 [citado 17 de marzo de 2016]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/75657430/DISENOS-EXPERIMENTALES-1>
46. Metodología de la investigación HERNANDEZ SAMPIERI [Internet]. 10:41:05 UTC [citado 17 de octubre de 2016]. Disponible en: [http://es.slideshare.net/bato8610/capitulo-7-26185487?next\\_slideshow=1](http://es.slideshare.net/bato8610/capitulo-7-26185487?next_slideshow=1)
47. ANEXO N 01 R.J. 202-2100-ANA - RJ-202-2010-ANA. Ministerio de Agricultura. [Internet]. Disponible en: <http://spij.minjus.gob.pe/graficos/Peru/2010/marzo/24/RJ-202-2010-ANA.pdf>

## ANEXOS

Fotos de la toma de muestra: mes de noviembre y diciembre





## Instrumento N° 01: Ubicación del punto de muestreo

<b>Cuerpo de agua</b>	:	.....
<b>Clasificación del Cuerpo de agua</b>	:	.....
<b>Cuenca</b>	:	.....
<b>Código de cuenca</b>	:	.....
 <b><u>Identificación del punto</u></b>		
<b>Código del punto de monitoreo</b>	:	.....
<b>Ubicación</b>	:	.....
<b>Accesibilidad</b>	:	.....
<b>Representatividad</b>	:	.....
<b>Descripción del lugar</b>	:	.....
 <b>Ubicación</b> :		
<b>Distrito:</b> .....	<b>Provincia:</b> .....	<b>Departamento:</b> .....
<b>Medición de posicionamiento</b> :		
	Tipo de coordenadas	
	Tipo de proyección	
	Zona UTM	
	Coordenadas Este (m)	
	Coordenadas Norte (m)	
	Altitud (m.s.n.m)	
 <b>Medición del caudal (promedio)</b> : .....		
<b>Fecha:</b> .../.../.....		Foto del lugar

**Instrumento N° 02:** Registro de Datos de campo y parámetros fisicoquímicos evaluados.

**c) Medición del caudal:**

Fecha	Tiempo (s)	V (L)	Caudal (L/s)	Caudal promedio (L/s)
..../..../....				
..../..../....				

**d) Medición de los parámetros fisicoquímicos in situ.**

Fechas	Ubicación	Hora:	PARAMETROS FISICOS QUIMICOS	VALOR	ECAS (Categoría 1. A2)
..../..../....	N:..... E:..... Altitud (msnm): .....		pH		5.5 - 9
			TURBIEDAD (UNT)		100
			TEMPERATURA (°C)		-
			CONDUCTIVIDAD (µS/cm)		1600
			O.D (ppm) PORCENTAJE DE SATURACIÓN(%)		>=5
..../..../....	N:..... E:..... Altitud (msnm): .....		pH		5.5 - 9
			TURBIEDAD (UNT)		100
			TEMPERATURA (°C)		-
			CONDUCTIVIDAD (µS/cm)		1600
			O.D (ppm) PORCENTAJE DE SATURACIÓN(%)		>=5

**Ficha de Registro N° 1a del Control positivo (Sulfato de Zinc) del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana)  
Instrumento N° 03: Ficha de Registro N° 1 del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana)**

Muestra : .....

Fecha de inicio:

Hora de inicio:

Investigadora : Bach. Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa

Fecha Fin:

Hora de Fin:

	CN(1)		CN(2)		CN(3)		100%(1)		100%(2)		100%(3)		30%(1)		30%(2)		30%(3)		10%(1)		10%(2)		10%(3)		3%(1)		3%(2)		3%(3)		1%(1)		1%(2)		1%(3)				
	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R			
	Mm																																						
1																																							
2																																							
3																																							
4																																							
5																																							
6																																							
7																																							
8																																							
9																																							
10																																							
11																																							
12																																							
13																																							
14																																							
15																																							
16																																							
17																																							
18																																							
19																																							
20																																							
% GERM.																																							
Observaciones:																																							

Muestra : Solución de Sulfato de Zinc

Fecha de inicio: 19/11/15

Hora de inicio: 6pm

Investigadora : Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa

Fecha Fin : 24/11/15

Hora de Fin : 6pm

	CN(1)		CN(2)		CN(3)		100ppm(1)		100ppm(2)		100ppm(3)		30ppm(1)		30ppm(2)		30ppm(3)		10ppm(1)		10ppm(2)		10ppm(3)		3ppm(1)		3ppm(2)		3ppm(3)		1ppm(1)		1ppm(2)		1ppm(3)	
	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R
	mm																																			
1	46	25	44	23	38	19	23	8	20	7	23	6	26	11	25	12	24	11	21	13	24	15	29	18	35	26	30	21	36	22	40	20	40	23	42	24
2	50	25	41	25	40	20	24	7	22	6	22	7	22	12	25	13	23	13	23	12	25	14	28	14	35	30	32	20	38	25	41	21	41	22	40	22
3	45	23	45	27	38	18	22	9	20	8	19	5	24	10	23	13	22	12	24	14	28	15	25	16	33	21	29	22	35	23	38	23	38	25	41	23
4	46	28	46	28	39	21	23	10	25	9	21	6	23	12	22	11	19	12	23	13	23	13	29	14	32	21	35	19	33	24	36	25	36	20	43	21
5	44	27	40	27	40	20	22	7	20	6	20	8	25	13	25	10	20	15	28	15	25	17	30	16	35	19	33	20	34	20	42	20	42	21	42	20
6	43	30	40	25	45	22	21	8	13	7	18	7	24	13	24	11	24	11	25	12	28	15	29	18	33	20	38	22	35	19	40	24	40	22	40	21
7	47	27	40	28	44	21	15	7	18	8	24	6	21	12	23	12	21	12	28	13	26	15	28	17	35	18	33	18	30	19	41	24	42	21	41	22
8	50	24	45	28	45	20	21	10	19	9	21	9	24	13	22	10	20	10	27	14	28	16	28	16	33	19	32	20	31	21	40	20	43	22	42	21
9	45	27	48	27	38	20	19	8	21	9	22	7	24	10	20	9	19	13	25	16	29	17	30	19	37	16	30	20	35	20	43	21	44	20	40	20
10	45	22	46	25	41	23	18	6	20	8	22	6	22	11	20	11	22	12	26	15	25	16	30	17	38	15	35	19	36	22	39	19	40	20	44	22
11	48	24	52	23	43	22	20	8	22	6	19	8	21	10	18	12	24	13	30	16	25	17	28	16	35	22	30	21	32	21	40	24	41	21	42	21
12	50	22	40	28	49	20	22	8	19	7	19	7	23	12	22	11	23	10	28	15	29	18	27	16	32	19	36	20	34	23	41	22	42	20	41	20
13	47	20	45	25	48	21	22	6	20	6	22	5	20	9	23	12	25	13	30	14	30	16	26	18	35	19	35	21	30	20	40	20	40	24	44	21
14	45	23	45	32	44	20	20	7	22	8	21	6	22	11	23	11	22	13	30	18	31	17	31	19	34	20	30	18	33	19	39	20	42	22	42	20
15	50	24	42	23	43	23	18	8	20	10	20	7	19	10	25	13	19	13	28	17	29	14	29	17	33	21	33	20	35	21	42	21	39	19	41	19

16	48	28	44	25	50	24	20	6	19	6	20	8	23	12	24	12	18	12	27	16	28	13	30	18	35	20	38	21	32	20	40	20	40	20	40	20
17	46	24	43	24	48	25	21	10	23	6	22	9	20	13	23	13	20	13	30	15	25	15	27	19	29	19	37	20	29	22	42	21	43	20	43	21
18	48	23	42	26	46	23	20	7	21	7	20	10	19	15	22	10	21	10	28	16	26	16	29	16	25	20	30	21	37	20	39	25	44	22	41	20
19	46	22	44	22	45	24	19	8	20	6	20	7	21	12	21	14	17	12	23	16	27	15	28	18	30	20	32	19	35	19	40	20	41	21	42	20
20	44	21	45	24	44	22	23	6	20	8	31	8	23	11	20	13	20	13	25	15	28	19	29	18	32	21	31	19	33	20	41	21	40	20	43	23
% GERM.	100						100						100						100						100						100					
Observaciones :	18 cotiledones verdes 18 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						4 cotiledones verdes 12 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						6 cotiledones verdes 14 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						8 cotiledones verdes 14 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						12 cotiledones verdes 15 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						14 cotiledones verdes 16 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.					

### Ficha de Registro N° 2a del Control positivo (Sulfato de Zinc) del Bioensayo de *Lactuca sativa* (lechuga americana)

Muestra : Solución de Sulfato de Zinc

Fecha de inicio: 19/11/15

Hora de inicio: 6pm

Investigadora : Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa

Fecha Fin : 24/11/15

Hora de Fin : 6pm

	CN(1)		CN(2)		CN(3)		100ppm(1)		100ppm(2)		100ppm(3)		30ppm(1)		30ppm(2)		30ppm(3)		10ppm(1)		10ppm(2)		10ppm(3)		3ppm(1)		3ppm(2)		3ppm(3)		1ppm(1)		1ppm(2)		1ppm(3)		
	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H	R	H
	mm																																				
1	45	26	45	25	40	21	19	8	19	10	21	9	25	13	25	12	24	13	25	14	30	16	29	14	36	20	36	22	38	21	42	22	38	21	40	20	
2	48	27	43	22	41	20	23	12	21	9	22	11	24	11	23	11	25	13	24	14	23	14	28	13	33	19	35	21	36	22	41	21	40	22	43	22	
3	44	24	40	26	44	21	22	11	20	8	19	7	25	12	24	12	22	10	26	13	28	15	30	15	32	21	37	22	39	20	39	19	42	24	42	22	
4	47	27	46	25	40	20	18	8	23	12	18	8	23	10	25	12	20	9	27	15	30	16	31	15	32	20	33	20	37	24	40	20	43	22	40	21	
5	43	21	41	24	39	19	19	8	19	9	20	8	24	11	25	12	23	11	24	13	26	15	26	13	34	20	36	25	36	20	38	20	41	21	44	23	
6	48	24	45	23	44	23	16	6	16	7	18	7	21	9	24	11	24	12	25	14	29	17	27	14	35	19	35	21	39	21	43	23	40	19	44	22	
7	46	26	51	28	48	23	16	5	18	8	19	6	22	10	23	10	21	10	25	13	26	14	26	13	33	17	37	21	33	19	42	22	41	22	42	21	
8	47	26	44	28	45	21	16	6	19	7	21	10	20	8	23	11	20	9	26	15	24	13	25	12	35	16	35	19	35	20	39	20	39	20	41	20	
9	45	25	47	27	40	19	15	5	21	12	15	8	22	10	24	13	20	8	25	13	27	15	29	14	38	18	36	18	39	21	42	21	42	22	41	20	
10	50	30	40	25	50	25	17	7	20	8	22	10	21	8	23	11	24	11	28	14	26	14	25	15	34	20	38	20	37	20	43	22	42	21	40	19	
11	48	24	51	23	44	24	22	13	20	8	23	11	21	9	20	9	24	10	23	13	28	15	26	13	36	21	34	18	38	23	42	21	40	20	42	23	
12	46	25	42	28	50	20	22	10	19	10	19	9	23	11	24	13	23	11	23	12	24	13	25	13	37	20	35	20	36	21	40	21	41	22	43	22	
13	48	24	47	22	43	22	16	8	20	11	17	8	22	10	24	10	22	11	22	13	27	14	28	15	38	22	36	19	39	22	40	20	41	21	39	20	

14	45	23	45	21	45	23	19	9	20	9	21	10	21	10	23	11	22	10	21	12	25	13	28	14	34	21	38	21	38	21	41	22	42	23	42	22
15	50	28	46	21	48	24	17	7	21	10	18	9	19	8	20	9	19	8	30	15	28	14	27	12	36	19	37	20	36	22	38	20	40	21	40	21
16	44	24	46	22	49	25	15	8	19	8	22	10	20	9	25	11	21	9	30	16	30	16	28	14	37	21	33	19	37	23	40	22	43	22	43	23
17	47	25	42	24	49	25	16	9	23	10	23	10	22	10	22	12	22	10	28	12	26	14	26	12	33	22	36	20	39	21	39	19	40	21	40	20
18	46	26	47	26	47	24	19	7	21	9	25	12	19	7	19	8	21	9	25	13	26	13	25	14	34	22	37	21	35	22	41	20	39	20	41	20
19	46	27	48	22	46	23	22	10	23	11	20	13	20	9	21	11	18	8	26	13	27	15	24	13	32	20	34	19	36	23	40	21	42	23	39	19
20	45	26	46	28	40	20	19	8	17	7	31	11	22	10	20	9	22	10	29	14	28	15	26	14	36	21	33	20	33	21	38	19	44	24	42	22
% GERM.	100						100						100						100						100						100					
Observaciones :	18 cotiledones verdes 18 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						5 cotiledones verdes 12 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						6 cotiledones verdes 12 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						10 cotiledones verdes 14 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						12 cotiledones verdes 15 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.						14 cotiledones verdes 16 raíces con pelos absorbentes bien diferenciados.					

Leyenda: CN: Control Negativo. H: Hipocótilo R: Radícula %GERM. : Porcentaje de germinación.

**TEMA: TOXICIDAD EN AGUAS SUPERFICIALES DE LA ESTACIÓN 6 DEL RIO CHILLÓN UTILIZANDO EL BIOENSAYO *Latuca sativa* - 2015**

**Matriz de consistencia**

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variabes											
Problema Principal	General	General	Independiente											
¿Cuál es la toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo <i>Latuca sativa</i> ?	Determinar la toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo <i>Latuca sativa</i> .	<p>Ho: No Existe toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo <i>Latuca sativa</i></p> <p>Ha: Existe toxicidad en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón utilizando el bioensayo <i>Latuca sativa</i>.</p>	Aguas superficiales de la Estación 6 (E61) del río Chillón.											
Problema Específicos	Específicos		Dependiente											
<p>1. ¿Cuáles son los parámetros fisicoquímicos in situ de la muestra de agua en la Estación 6?</p> <p>2. ¿Cuál es el porcentaje de inhibición en la elongación de la raíz?</p> <p>3. ¿Cuál es el porcentaje de inhibición del hipocótilo de <i>Latuca sativa</i> en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?</p> <p>4. ¿Cuál es el porcentaje de inhibición en la germinación de <i>Latuca sativa</i> en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?</p> <p>5. ¿Existen efectos fitotóxicos en el desarrollo de la germinación de la <i>Latuca sativa</i> en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?</p>	<p>1. Determinar los parámetros fisicoquímicos in situ de la muestra de agua en la Estación 6?</p> <p>2. Determinar el porcentaje de inhibición en la germinación de <i>Latuca sativa</i> en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.</p> <p>3. Evaluar el porcentaje de inhibición en la elongación de la raíz y del hipocótilo de <i>Latuca sativa</i> en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón.</p> <p>4. Determinar los efectos fitotóxicos en el desarrollo de la germinación de la <i>Latuca sativa</i> en aguas superficiales de la estación 6 del río Chillón?</p>		<p>Toxicidad:</p> $IER = \frac{Eir - Ecr}{Ecr}$ <table border="1"> <thead> <tr> <th>rangos de IER</th> <th>Nivel de toxicidad</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 a -0,25</td> <td>Baja toxicidad</td> </tr> <tr> <td>-0,25 a -0,75</td> <td>Toxicidad moderada</td> </tr> <tr> <td>-0,75 a -1</td> <td>Muy tóxico</td> </tr> <tr> <td>&gt; 0</td> <td>Toxicidad muy alta</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Crecimiento de la radícula u hormesis</td> </tr> </tbody> </table> <p>Índice de toxicidad</p>	rangos de IER	Nivel de toxicidad	0 a -0,25	Baja toxicidad	-0,25 a -0,75	Toxicidad moderada	-0,75 a -1	Muy tóxico	> 0	Toxicidad muy alta	
rangos de IER	Nivel de toxicidad													
0 a -0,25	Baja toxicidad													
-0,25 a -0,75	Toxicidad moderada													
-0,75 a -1	Muy tóxico													
> 0	Toxicidad muy alta													
	Crecimiento de la radícula u hormesis													



Cuadro 31. Registro de Porcentajes de inhibición del bioensayo *Lactuca sativa* para el 1er muestreo

Grupo		% de inhibición de la elongación de la Radícula (%IER)	% de inhibición de la elongación del hipocótilo (%IEH)	% de germinación
100%	1	28,57	8,70	100
	2	28,17	11,94	100
	3	34,25	17,39	100
	4	45,24	19,86	100
	5	31,25	17,65	100
	6	31,71	14,18	100
	7	34,18	14,07	100
	8	20,55	17,73	100
	9	36,49	21,13	100
	10	27,94	23,19	100
	11	16,42	26,53	100
	12	32,88	13,43	100
	13	30,43	24,83	100
	14	31,58	18,38	100
	15	21,74	8,46	100
	16	27,27	14,81	100
	17	26,76	21,28	100
	18	23,29	18,25	100
	19	19,40	16,91	100
	20	19,40	12,03	100
30%	1	15,71	15,22	100
	2	32,39	13,43	100
	3	28,77	19,57	100
	4	41,67	12,33	100
	5	30,00	15,44	100
	6	31,71	14,93	100
	7	30,38	4,44	100
	8	16,44	10,64	100
	9	21,62	17,61	100
	10	22,06	18,12	100
	11	19,40	20,41	100
	12	28,77	11,94	100
	13	23,19	15,86	100
	14	25,00	14,71	100
	15	11,59	10,00	100
	16	16,67	11,85	100
	17	21,13	14,89	100
	18	27,40	11,68	100
	19	14,93	11,76	100
	20	14,93	9,02	100
10%	1	22,86	12,32	100
	2	7,04	12,69	100
	3	13,70	14,49	100
	4	28,57	18,49	100
	5	21,25	13,24	100
	6	19,51	12,69	100
	7	12,66	4,44	100
	8	5,48	13,48	100
	9	10,81	12,68	100
	10	-2,94	2,90	100
	11	0,00	18,37	100
	12	16,44	7,46	100
	13	8,70	15,17	100
	14	10,53	8,82	100
	15	0,00	5,38	100
	16	-1,52	8,15	100
	17	15,49	11,35	100
	18	13,70	8,76	100
	19	14,93	8,82	100
	20	10,45	6,02	100

3%	1	2,86	-1,45	100
	2	0,00	1,49	100
	3	10,96	7,25	100
	4	16,67	13,01	100
	5	2,50	0,74	100
	6	8,54	4,48	100
	7	11,39	4,44	100
	8	6,85	9,22	100
	9	1,35	5,63	100
	10	-2,94	8,70	100
	11	-7,46	10,20	100
	12	8,22	3,73	100
	13	1,45	8,28	100
	14	1,32	3,68	100
	15	-4,35	0,77	100
	16	0,00	0,74	100
	17	-18,31	11,35	100
	18	8,22	5,11	100
	19	-16,42	2,21	100
	20	-2,99	6,77	100
1%	1	-1,43	7,25	100
	2	-9,86	-9,70	100
	3	6,85	2,90	100
	4	2,38	8,22	100
	5	7,50	-4,41	100
	6	-1,22	1,49	100
	7	10,13	4,44	100
	8	15,07	17,73	100
	9	1,35	4,93	100
	10	4,41	24,64	100
	11	-14,93	8,16	100
	12	6,85	-7,46	100
	13	-15,94	-1,38	100
	14	-3,95	7,35	100
	15	2,90	-2,31	100
	16	-12,12	0,00	100
	17	-5,63	0,00	100
	18	-1,37	-3,65	100
	19	-4,48	-9,56	100
	20	5,97	-0,75	100

**Cuadro 32. Registro de Porcentajes de inhibición del bioensayo *Lactuca sativa* para el 2do. muestreo**

Grupo		% de inhibición de la raíz	% de inhibición del hipocotilo	% de germinación
100%	1	30,26	14,08	95
	2	32,35	8,06	95
	3	30,67	11,11	95
	4	30,00	8,03	95
	5	35,06	10,71	95
	6	37,50	16,08	95
	7	33,33	15,97	95
	8	17,57	10,14	95
	9	39,47	26,06	95
	10	20,83	17,27	95
	11	12,00	19,58	95
	12	30,26	29,05	95
	13	19,72	15,71	95
	14	25,68	17,61	95
	15	14,71	12,23	95
	16	15,94	13,67	95
	17	20,27	15,75	95
	18	24,66	22,52	95
	19	16,67	20,44	95
	20			
30%	1	21,05	16,90	95
	2	14,71	2,42	95
	3	28,00	14,07	95
	4	23,75	14,60	95
	5	24,68	18,57	95
	6	21,25	16,08	95
	7	33,33	17,36	95
	8	16,22	15,22	95
	9	26,32	15,49	95
	10	11,11	14,39	95
	11	28,00	20,28	95
	12	22,37	22,30	95
	13	14,08	15,71	95
	14	27,03	16,20	95
	15	14,71	12,23	95
	16	26,09	10,07	95
	17	24,32	15,07	95
	18	23,29	21,85	95
	19	10,61	10,95	95
	20			
10%	1	26,32	2,82	95
	2	16,18	-8,06	95
	3	20,00	5,19	95
	4	18,75	2,19	95
	5	29,87	4,29	95
	6	23,75	4,20	95
	7	23,46	12,50	95
	8	18,92	8,70	95
	9	19,74	11,27	95
	10	23,61	17,27	95
	11	25,33	16,08	95
	12	25,00	16,89	95
	13	18,31	15,00	95

	14	22,97	13,38	95
	15	19,12	13,67	95
	16	10,14	5,76	95
	17	17,57	13,01	95
	18	23,29	18,54	95
	19	10,61	10,95	95
	20			
3%	1	19,74	7,75	95
	2	-1,47	-3,23	95
	3	20,00	7,41	95
	4	28,75	9,49	95
	5	22,08	6,43	95
	6	27,50	8,39	95
	7	33,33	11,81	95
	8	9,46	7,25	95
	9	21,05	11,27	95
	10	18,06	6,47	95
	11	16,00	5,59	95
	12	23,68	13,51	95
	13	7,04	6,43	95
	14	1,35	10,56	95
	15	1,47	9,35	95
	16	10,14	11,51	95
	17	13,51	12,33	95
	18	16,44	17,22	95
	19	6,06	8,03	95
		20		
	1	13,16	7,75	100
	2	13,24	0,00	100
	3	21,33	5,93	100
	4	16,25	3,65	100
	5	18,18	10,00	100
	6	26,25	7,69	100
	7	19,75	6,25	100
	8	10,81	-2,17	100
	9	17,11	1,41	100
	10	12,50	7,19	100
	11	12,00	-1,40	100
	12	18,42	8,78	100
	13	11,27	12,86	100
	14	17,57	5,63	100
	15	5,88	6,47	100
	16	5,80	7,19	100
	17	16,22	14,38	100
	18	12,33	16,56	100
	19	0,00	7,30	100
	20	5,63	15,28	100