

CNEA NT 27/77

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
DEPENDIENTE DE LA PRESIDENCIA DE LA NACION

GERENCIA PROTECCION RADIOLOGICA Y SEGURIDAD
DIVISION ESTUDIOS AMBIENTALES

RESISTENCIA TERMICA DE JUVENILES DE PEJERREY
(*Basilichthys bonariensis*). PRIMEROS RESULTADOS.

BRICELJ, V.M.
CHURRUARIN, J.L.
ARNAUD, M.I.
CANCIO, D.
CIALLELLA, N.R.

BUENOS AIRES
1977

CNEA NT 27/77

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
DEPENDIENTE DE LA PRESIDENCIA DE LA NACION

GERENCIA PROTECCION RADIOLOGICA Y SEGURIDAD
DIVISION ESTUDIOS AMBIENTALES

RESISTENCIA TERMICA DE JUVENILES DE PEJERREY
(*Basilichthys bonariensis*). PRIMEROS RESULTADOS.

BRICELJ, V.M.
CHURRUARIN, J.L.
ARNAUD, M.I.
CANCIO, D.
CIALLELLA, N.R.

BUENOS AIRES
1977

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
DEPENDIENTE DE LA PRESIDENCIA DE LA NACION

RESISTENCIA TERMICA DE JUVENILES DE PEJERREY
(*Basilichthys bonariensis*). PRIMEROS RESULTADOS.

Bricelj, V.M.; Churruarin, J.L.; Arnaud, M.I.; Cancio, D.;
Ciallella, N.R.

RESUMEN

El presente trabajo describe la metodología utilizada para la determinación de la resistencia térmica de juveniles de pejerrey y presenta los primeros resultados obtenidos con ejemplares aclimatados a 28°C. Surge de este trabajo que para una temperatura estacional de 28°C, la exposición "indefinida" (en este caso representada por 5 días de experimentación) a temperaturas inferiores a 32°C no podrá producir mortalidad del 50% de la población afectada, por efectos directos de la temperatura.

RESISTENCIA TERMICA DE JUVENILES DE PEJERREY
(*Basilichthys bonariensis*) . PRIMEROS RESULTADOS

Bricelj, V.M.; Churruarin, J.L.; Arnaud, M.I.; Cancio, D.;
Ciallella, N.R.

1.- INTRODUCCION

La operación de instalaciones termoeléctricas convencionales o de centrales nucleares de potencia involucra la descarga de calor residual al ambiente. En particular, la Central Nuclear en Embalse, Córdoba, prevee la utilización de las aguas del Embalse de Río III como refrigerante, y su reintegro al cuerpo de agua a través de un canal de descarga. El salto térmico previsto en el pasaje a través de los condensadores es de 7°C (1). En la División Estudios Ambientales de la Comisión Nacional de Energía Atómica se encararon estudios para determinar los posibles efectos de la descarga térmica sobre la biota acuática. Como primera aproximación al problema se iniciaron bioensayos con el fin de determinar la resistencia térmica del pejerrey - *Basilichthys bonariensis* - (Flia. *Atherinidae*) ante una elevación brusca de la temperatura.

La calidad de la carne de este pez y las características de su pezca han impulsado su difusión en diversos cuerpos de agua dulce del país, entre ellos el Embalse Río III, mediante la práctica de la fecundación artificial y siembra (2). Con respecto a los requerimientos térmicos de la especie, se ha establecido que la temperatura óptima de incubación es de aproximadamente 17°C (3) a 20°C (4), y que el óptimo para los individuos adultos es de 17°C, pudiendo tolerar oscilaciones variables entre los 10 y 28°C (2).

Se conoce una abundante bibliografía sobre efectos de la temperatura a nivel de organismo, comunidad y ecosistema, y más recientemente se han realizado numerosos estudios aplicados directamente al análisis de efectos provocados por la descarga de centrales nucleares (5) (6) (7) (8) (9) (10). Por lo tanto se ha generalizado la terminología a emplear en este tipo de trabajos.

Es un hecho conocido que cada especie, y a menudo cada estadio del ciclo vital de una especie posee un rango de tolerancia térmica donde asegura el desarrollo de sus funciones vitales y supervivencia. Los límites extremos, tanto superiores como inferiores, de este rango constituyen las temperaturas letales. Sin embargo, se verifica que en los organismos poiquiloterms ocurre el fenómeno de aclimatación o adaptación a la temperatura ambiente a través de un cambio en el ritmo metabólico (11). De ahí que no exista en realidad una única temperatura letal, si no varias dependiendo de la temperatura estacional o, en condiciones experimentales, de la temperatura de aclimatación.

Se han empleado en el pasado varios métodos alternativos para determinar dichas temperaturas letales en los peces: el calentamiento gradual a velocidad constante y determinación del máximo crítico o CTM (12) (13), la exposición durante un tiempo especificado arbitrariamente (generalmente de 24, 48 ó 96 horas) a distintas temperaturas y determinación del límite de tolerancia medio o temperatura a la cual sobrevive un porcentaje dado de la muestra (14), o la exposición a una temperatura constante y determinación de los tiempos medios de resistencia y de la temperatura letal incipiente para cada temperatura de aclimatación. Esta se define como aquella temperatura que provoca la muerte de una fracción dada de la población experimental (generalmente el 50%) como resultado de una exposición indefinidamente prolongada, cuando la muestra se transfiere rápidamente a esa temperatura a partir de una determinada temperatura de aclimatación

(5). Es decir que un aumento de temperatura por encima del nivel letal incipiente no implica necesariamente muerte de los organismos, sino que ésta será función de la duración de exposición y de la temperatura. Este último procedimiento, utilizado por varios investigadores (5) (15) (16) (11), es el que ha sido adoptado en este trabajo.

El modelo de resistencia térmica obtenido mediante este método (Fig. 8) es el que permite una mejor predicción cuantitativa de los efectos que pueden producirse en las cercanías de una central nuclear, ya sea por pasaje a través del sistema condensador, o de la "pluma térmica" o zona de gradiente térmico en el punto de descarga. Al basarse en el mantenimiento de una temperatura constante evita el inconveniente de encontrar una velocidad de calentamiento adecuada.

El doble objetivo de este trabajo preliminar es pues el de describir una metodología de trabajo para analizar el problema planteado, y presentar los primeros resultados sobre resistencia térmica de juveniles de pejerrey aclimatado a una temperatura de 28°C. Se están realizando actualmente en el laboratorio ensayos con larvas, a fin de comparar la respuesta de los distintos estadios, y también ensayos con juveniles a otras temperaturas de aclimatación para poder obtener un modelo completo capaz de describir los cambios estacionales de respuesta.

2.- MATERIAL Y METODOS

2.1 Obtención, transporte y mantenimiento.

Los ejemplares de pejerrey - *B. bonariensis* - utilizados en los bioensayos se obtuvieron de la Estación de Piscicultura de Chascomús, Pcia. de Bs.As., provenientes de la fecundación artificial allí realizada durante los años 1975 y 76.

Fueron transportados al laboratorio del Centro Atómico Ezeiza (CNEA) a 120 km. de distancia, ya sea como juveniles provenientes de los estanques a la intemperie de dicha Estación, o como alevinos recién eclosionados

de la sala de incubación. En ambos casos el transporte se efectuó en bolsas de polietileno, llenando aproximadamente un tercio de su capacidad con agua y completando con oxígeno, cerradas herméticamente y colocadas dentro de cajones tapizados con telgopor con el fin de evitar cambios bruscos de temperatura. El transporte de juveniles durante los meses cálidos se efectuó durante la noche para evitar el calentamiento excesivo.

Mientras que el transporte de alevinos no ofreció mayores dificultades, el de juveniles, (efectuado sin anestésico o con una dosis de anestésico MS-222 Sandoz en concentración de 1:200.000), resultó en una mortalidad considerable, aunque no cuantificada. En cambio, varios intentos de transportar juveniles capturados directamente en la Laguna de Chascomús mediante red de arrastre, resultaron en pérdidas totales.

En aquellos casos en que se transportaron alevinos recién eclosionados, éstos fueron criados en el laboratorio hasta alcanzar la talla deseada. Las experiencias descritas en el presente trabajo se efectuaron con juveniles de aproximadamente 4 a 8 meses de edad, cuyos datos biométricos: longitud total, longitud standard, peso y factor de condición K, figuran en la Tabla I.

Los pejerreyes se mantuvieron en el laboratorio en acuarios de vidrio de 120 y 270 l. de capacidad, cuyas dimensiones son de: 50 cm. de ancho x 60 cm. de largo x 40 cm. de alto, y 60 cm. de ancho x 90 cm. de largo x 50 cm. de alto respectivamente, con aireación adecuada mediante un compresor de aire y piedras difusoras. El alimento suministrado fue una combinación de larvas vivas de *Artemia salina*, (especialmente durante el primer mes a partir de la eclosión) y alimento comercial seco, en polvo y en escamas. Al no disponer de un sistema que permitiera la circulación continua de agua, se realizaba periódicamente el sifoneo y renovación parcial del agua de los acuarios manteniendo

la temperatura requerida.

Esporádicamente se detectó la aparición de hongos por Saprolegniaceas, que fue controlada eficazmente mediante tratamientos alternativos con ClNa (en una concentración de 0,9 a 1 g/l. de agua del acuario) y tripaflavina neutra (en una concentración de 2 mg./l. de agua del acuario). El pH del agua se mantuvo entre aproximadamente 8,2 y 8,8.

El agua empleada para los acuarios proviene de pozo y su análisis químico se detalla a continuación(17):

pH: 7,80 $\pm$ 0,05
Cloruros: 46 ppm.
Dureza total (expresada como
CO₃Ca): 71 ppm.
Calcio (como CO₃Ca): 27 ppm.
Alcalinidad por bicarbonatos: 365 ppm.
(como CO₃Ca)

2.2 Control de la temperatura.

El mantenimiento y control de la temperatura en los acuarios se logró mediante un número variable de calefactores comerciales de 100 a 250 watts, que constan de resistencias en tubos de vidrio pyrex, y termostatos con sistema de doble relay y sensor de temperatura o termómetro de contacto marca Jumo. Están siendo reemplazados actualmente por sistemas electrónicos de mayor confiabilidad que utilizan una termoresistencia de platino como sensor. La temperatura se mantuvo dentro de 0,1°C del valor deseado y se controló mediante un termómetro de mercurio standard, graduado a la décima y calibrado.

La aclimatación a temperatura constante previa al ensayo se efectuó durante un período mínimo de 13 días (en el caso de ensayos a 34°C) y generalmente durante períodos más prolongados, superiores a los 30 días, a fin de evitar que diferencias en la historia térmica previa ejercieran un efecto significativo sobre los resultados. El tiempo mínimo se

eligió en base a información de otros autores (7) (11) (18) (19) (20).

2.3 Desarrollo de los bioensayos:

Las experiencias sobre impacto o "shock" térmico se llevaron a cabo en baños letales o acuarios acondicionados provistos de una caja de acrílico perforada (Fig. 1) dentro de la cual eran colocados los peces, de forma tal que las resistencias quedaran por fuera de dicha caja asegurando una mayor uniformidad en la distribución de la temperatura.

Antes y durante la experiencia se efectuó el control del oxígeno disuelto por método de Winkler y en todos los casos se detectaron niveles cercanos al de saturación, verificando así que el oxígeno no actuó como factor limitante.

Los peces fueron transferidos del acuario de aclimatación al de experimentación en un recipiente con agua, arrimándolos previamente cerca de la superficie con una red, de modo que en ningún momento quedaran expuestos al aire, dado que se comprobó que el pasaje y manipuleo excesivo con red a menudo provocaba traumatismos no observables a simple vista y anomalías de comportamiento que podían afectar la respuesta ante la elevación brusca de la temperatura.

La duración máxima de los ensayos se estableció en 5 días, ya que un período más prolongado probablemente haría interferir factores secundarios (por ejemplo, aparición de enfermedades, desnutrición, etc.), siendo además dificultoso por motivos de tipo organizativo.

Los ensayos se efectuaron con temperaturas de exposición decrecientes de grado en grado, a partir de los 35°C, tratando de abarcar así desde efectos letales rápidos, a lentos y no letales. Durante la experiencia se registraron los tiempos individuales de muerte, tomando como criterio pa-

ra su determinación el cese de movimiento opercular que en general sucede a espasmos o contracciones musculares, respuesta que es fácilmente observable y ha sido utilizada en forma generalizada en este tipo de trabajos. (En experiencias efectuadas recientemente con larvas se ha observado que en algunos casos continúa latiendo el corazón aún después de haber cesado el movimiento opercular).

En algunos casos, particularmente al tratarse de experiencias de larga duración, se mantuvo un grupo control sometido al mismo manipuleo pero sin sufrir una elevación de temperatura, para verificar si se producía muerte por causas ajenas a ésta.

No se suministró alimento a los peces dentro de las 24 horas anteriores al comienzo de la experiencia, y una vez finalizada se determinaron los parámetros biométricos de ejemplares previamente fijados en formol 5%. Durante experiencias prolongadas los peces fueron alimentados normalmente y se observó que el impacto térmico está relacionado en ocasiones no sólo con la pérdida temporaria o definitiva del equilibrio, sino también por desnutrición e incapacidad de capturar el alimento. Por este motivo resulta necesario encarar estudios sobre efectos subletales de importancia para la supervivencia (14) (21) (22).

El tamaño muestral (N) para cada ensayo osciló en forma variable entre 19 y 88, estando limitado por la capacidad del acuario y por la posibilidad del observador de registrar muertes simultáneas o muy próximas durante experiencias de salto térmico elevado. Los ensayos para una determinada temperatura de exposición se efectuaron como mínimo por duplicado, y luego se procedió a hacer un "pool" de los datos obtenidos para su análisis.

2.4 Análisis estadístico de la curva tiempo-mortalidad:

Se ha adoptado para este trabajo la metodología de Bliss (23) que fuera originalmente aplicada al análisis de fenómenos toxicológicos que al igual que en este caso involucran una respuesta de "todo o nada" o de cuantos. De acuerdo con esta metodología y a innumerables ensayos realizados hasta la fecha con peces e invertebrados, al someter una población experimental al impacto de un factor letal, en este caso la temperatura, los tiempos individuales de muerte, o alguna transformación adecuada de éstos (logarítmica, recíproca u otra) se distribuyen a menudo según una curva gaussiana de probabilidades. Es decir que la representación de los tiempos (t) o una transformación de éstos, que denominaremos a partir de aquí variable $x = f(t)$

en función de las frecuencias porcentuales acumuladas, resulta en una curva sigmoide característica tal como la que se ejemplifica en la Fig.2. A su vez la representación de x en función de los "probits" o unidades de probabilidad (P) (parámetro definido por Bliss (24) como la variable tipificada de la distribución normal incrementada en 5, o sea

$$P = (x - \mu) / \sigma + 5 \quad (I)$$

y cuya ventaja reside en no tomar valores negativos; el valor de 5 fue escogido debido a que la variable tipificada z muy raramente toma valores menores que -5 ó mayores que 5, siendo la probabilidad de que esto ocurra de sólo el 0,002%) permite obtener una recta del tipo:

$$P = a + bx$$

de enorme utilidad en la práctica, puesto que a partir de ella es posible calcular en forma inmediata el porcentaje de mortalidad producido por una dada duración de exposición. En particular se puede obtener gráficamente para cada temperatura de impacto el tiempo medio de resistencia (t_{50}), o sea el tiempo que resiste a esa temperatura el 50% de la muestra,

como el valor de t para el cual $P=5$, y la desviación típica (s) de la distribución, dada por la pendiente de la recta. Puesto que la distribución normal posee la propiedad de que coinciden la mediana, moda y media, el valor de t_{50} posee un claro valor descriptivo.

Los valores de unidades de probabilidad se obtuvieron de tablas (24), a partir de las frecuencias porcentuales acumuladas. En aquellos casos en que los datos no fueron agrupados, y con el fin de no introducir error por omisión o inclusión de el o los individuos que reaccionan en un instante dado, se calculó cada frecuencia acumulada como el número total de individuos que murieron a tiempos menores, más la mitad de los individuos que murieron en el tiempo correspondiente (23), según se ejemplifica en el siguiente cuadro:

Frecuencia observada	Frecuencia corregida
a	$a/2$
b	$a + b/2$
c	$a + b + c/2$

En aquellos casos en que no fue posible obtener un registro completo de los tiempos individuales de reacción, debido a que al finalizar el período pre fijado de experimentación, había reaccionado más del 50% pero menos del 100%, se estimaron los estadísticos básicos - t_{50} y s - a partir de la representación gráfica en escala probabilística. Es decir que se adoptó el mismo procedimiento empleado para las curvas completas, basando las frecuencias porcentuales en el número total de organismos, incluyendo los sobrevivientes.

Diversos autores, entre ellos Hald (25) (26) y Stevens (27) han propuesto métodos analíticos de máxima verosimilitud para obtener con mayor exactitud los estadísticos t_{50} y s a partir de curvas truncas

para el caso en que se conoce el número de individuos en el extremo truncado. Aunque, como se verá más adelante, se obtuvo truncamiento a una temperatura de exposición de 32°C, se juzgó que en este caso no era justificada la aplicación de un método analítico, dada la regularidad de los datos obtenidos y puesto que el extremo truncado sólo incluía una fracción muy pequeña de la muestra.

El ajuste de los datos originales o transformados a una distribución normal (en el caso de distribuciones completas), se verificó mediante el cálculo de los coeficientes de sesgo (g_1) y curtosis (g_2) empleados por Bliss (23)**. Este método, que involucra el cálculo del tercer y cuarto momento respecto de la media posee la ventaja de no requerir el agrupamiento de los datos en intervalos de clase.

Se calculó además el coeficiente de correlación lineal (r) como una medida numérica de la bondad de ajuste de la recta a los datos obtenidos.

$$** \quad g_1 = \mu^3 . N / s^3 \cdot (N - 1) . (N - 2)$$

donde μ^3 representa el tercer momento con respecto a la media.

$$g_2 = \frac{\mu^4 . N . (N + 1) - 3 . (N - 1)^3 . s^4}{(N - 1) . (N - 2) . (N - 3) . s^4}$$

donde μ^4 representa el cuarto momento con respecto a la media.

$$V(g_1) = \frac{6N . (N - 1)}{(N - 2) . (N + 1) . (N + 3)}$$

$$V(g_2) = \frac{24N . (N - 1)^2}{(N - 3) (N - 2) (N + 3) (N + 5)}$$

donde V es la varianza correspondiente.

Los coeficientes g_1 y g_2 son iguales a 0 en una distribución normal teórica. Cuando la razón entre cada g y su error standard ($\sqrt{V(g)}$) es menor que 1,96 consideramos que la variable en cuestión se distribuye normalmente, con un nivel de significación del 5%.

3.- RESULTADOS

En las Figuras 3,4,5 y 6 se representan los resultados obtenidos para las temperaturas de impacto de 35,34 33 y 32°C respectivamente, en escala de probabilidades. Mientras que a las temperaturas más elevadas - 35 y 34°C - los tiempos originales se distribuyen normalmente, a 33 y 32°C fue necesario recurrir a la transformación logarítmica para reducir los tiempos de mortalidad a una normal.

Se observa que tanto en estas representaciones como en la sigmoide de la Fig. 2 los puntos parecen enroscarse sistemáticamente alrededor de la recta, lo cual también ha sido comprobado por otros autores (23) (25). Esto se debe a la dependencia que existe entre los sucesivos puntos por tratarse de una representación acumulativa, es decir que si la frecuencia dentro de un intervalo de clase ha sido inferior a lo esperado para una distribución normal teórica (el punto cae por debajo de la recta), es probable que en el siguiente intervalo la frecuencia con respecto al valor esperado aumente para compensar el valor anterior (el punto cae por encima de la recta), y así sucesivamente.

Las Figuras 3,4 y 5 representan registros completos de los tiempos individuales de reacción, mientras que a 32°C se obtuvo una distribución trunca ya que 2 individuos (1,6% de la muestra) no reaccionó dentro del lapso prefijado de 5 días. Se puede interpretar como un caso de truncamiento artificial debido al diseño de la experiencia, ya que los sobrevivientes murieron antes de finalizar el séptimo día. Dado el elevado tamaño muestral - 126 ejemplares - los datos fueron agrupados en 13 intervalos de clase con tamaño de clase de 0,05. Los puntos representados corresponden a los límites superiores de cada intervalo. En el trazado de la recta de regresión no se tuvo en cuenta el primer punto (límite superior = 2,975) que corresponde al tiempo de muerte de sólo 2 individuos y se aleja de la tendencia general. Posiblemente se trate de muertes algo retrasadas provocadas por

el manipuleo durante el pasaje al baño letal.

En la Tabla II se registran los tiempos medios de resistencia (t_{50}) para cada temperatura letal con sus correspondientes desviaciones standard y el número total de individuos en el que se basa cada valor. Resulta evidente la asimetría del intervalo para la media en aquellos casos en que se utilizó la transformación logarítmica. Los estimadores indicados fueron calculados como la media aritmética o media geométrica según el caso, de acuerdo con:

$$\bar{x} = \sum x/N \quad \text{y} \quad s = \sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 / N}$$

excepto a 32°C en que, por tratarse de una distribución trunca, los estadísticos se obtuvieron a partir de la representación gráfica.

Con fines comparativos en la Tabla III se indican las ecuaciones de la recta obtenidas mediante ambos procedimientos. En la segunda columna se indica la recta de cuadrados mínimos calculada para los puntos representados en las Figuras 3 a 6. En la tercer columna de dicha tabla se calcularon en primer término $\bar{x}$ y s en forma aritmética y luego se sustituyeron por los parámetros correspondientes en la ecuación

$$p = \frac{1}{s} x - \frac{\mu}{s} + 5$$

obtenida por reagrupamiento de (I), siendo $1/s$ la pendiente y $\bar{x} + 5$ la ordenada al origen. En la Tabla figuran también las medidas numéricas de ajuste a la distribución normal.

A 30°C y 31°C se registró menos del 50% de mortalidad dentro de los 5 días de experimentación; a 30°C murió sólo el 6,6% de la muestra dentro del plazo estipulado.

En la Fig. 7 se representan los tiempos medios de resistencia (t_{50}) de la Tabla III en función de la temperatura de impacto, y se ha trazado la recta en base a la ecuación de regresión correspondiente. Se desprende que la temperatura letal incipiente superior para una aclimatación de 28°C es de 32°C.

Por otra parte, los resultados obtenidos en el labo-

ratorio parecerían indicar que la máxima temperatura de aclimatación que se puede alcanzar con juveniles de esta especie es de 29-30°C.

Los resultados obtenidos a 31°C merecen un análisis particular. Por extrapolación de la recta teórica de la Fig. 7 se obtiene que el 50% morirá recién a los 11.200 min. (7,8 días). Se realizaron dos experiencias (número muestral total=113), con peces provenientes del mismo período de desove y criados en condiciones semejantes, y se obtuvo, reuniendo los datos de ambas, una mortalidad del 49%. A esta temperatura, tan próxima a la temperatura letal incipiente, se observa una gran variación en la susceptibilidad individual y gran dispersión de los tiempos de mortalidad: mientras que las primeras muertes comenzaron a registrarse a partir de las 42 horas, los sobrevivientes continuaban vivos aún al décimo día a partir del comienzo de la experiencia. Se puede interpretar por lo tanto, como un caso de truncamiento biológico, o sea inherente al proceso biológico, ya que no se podrá obtener una distribución completa aún modificando el diseño experimental.

Dado que algunos investigadores han hallado una correlación entre la talla de los peces y el tiempo de mortalidad (11), se empleó el test "t" de diferencia entre medias para comparar el peso y largo total entre los primeros y los últimos individuos en morir. A continuación se indican los resultados obtenidos a temperaturas de exposición de 34 y 33°C:

Temp. (°C)	Grados de libertad	Peso (gramos) $\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	"t" de Student	P	$N_1 = N_2$
33	28	0,301	1,30	0,2	15
34	38	0,068	1,76	0,09	20

Temp. (°C)	Grados de libertad	Longitud total (cm.) $\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	"t" de Student	P	$N_1 = N_2$
33	28	0,44	1,28	0,2	15
34	38	0,20	1,15	0,3	20

No se observaron pues diferencias significativas a los niveles de probabilidad (p) indicados.

Se comprueba a través de este trabajo la ya conoci-

da relación de que, para una dada temperatura de aclimatación, una disminución en la temperatura de impacto es acompañada por un aumento correlativo del tiempo medio de resistencia.

Por otra parte, experiencias preliminares realizadas a una temperatura de aclimatación de 23°C y una temperatura de exposición de 32°C, resultaron en un tiempo medio de 1084 minutos, lo cual permite establecer que un aumento de 5°C en la temperatura de aclimatación (de 23 a 28°C), ha incrementado en 2,6 veces el tiempo medio de resistencia.

4.- DISCUSION

A pesar de que se ha controlado, en lo posible, las fuentes de variabilidad (temperatura, dieta, etc.) será conveniente lograr en el futuro una uniformidad aún mayor de las condiciones experimentales durante el período previo a la aclimatación a temperatura constante.

Resulta evidente que la mayor dificultad en el uso del pejerrey para efectuar bioensayos reside en su poca resistencia al manipuleo, de modo que se deben extremar los cuidados en este sentido; se corroboran así los resultados obtenidos en la Estación de Piscicultura de Kanagawa, Japón (3).

A pesar de que en algunos casos se han detectado diferencias pequeñas, aunque significativas, de respuesta térmica entre poblaciones de la misma especie de distinta localización geográfica (28) (29), se trabajó con pejerrey proveniente de la Laguna de Chascomús, Pcia. de Bs.As., por su mayor cercanía y disponibilidad. Puesto que el pejerrey de Embalse de Río III proviene originalmente de Chascomús (30) es de suponer que los resultados obtenidos podrán ser extrapolados para describir a ambas poblaciones.

A través de la bibliografía se conoce que la posibilidad de mortalidad directa de los organismos por el impacto de la temperatura se acentúa, por lo general, du

rante los meses más cálidos del año, cuando es más probable que la temperatura en los condensadores se acerquen o supere el nivel letal incipiente.

Por lo tanto, aunque se espera completar el modelo de resistencia térmica para la especie, (ejemplificado en la Fig. 8 para una especie hipotética), los resultados obtenidos a una temperatura de aclimatación de 28°C, complementados con aquellos obtenidos a otras temperaturas de aclimatación cercanas, permitirán predecir los efectos producidos en la época más crítica de los meses de verano en el Embalse.

Mediciones efectuadas en el Embalse (Enero 1958) indican que la temperatura puede alcanzar 28°C en superficie (31) y registros preliminares realizados por la CNEA (32) obtuvieron una máxima absoluta de 29,4°C en superficie (Enero 1972). Es importante aclarar que, bajo condiciones de estratificación térmica en el Embalse (situación característica de la época estival), y teniendo en cuenta que la toma del agua por la Central se realiza en profundidad, y su descarga en la superficie (luego de recorrer un canal de 6 km. de longitud, cuyo diseño favorece el intercambio de calor con el ambiente), se logrará una reducción del salto térmico en el punto de la descarga.

Surge de este trabajo que para una temperatura estacional de 28°C, la exposición "indefinida" (en este caso representada por 5 días de experimentación) a temperaturas inferiores a 32°C no podrá producir mortalidad del 50% de la población afectada, por efectos directos de la temperatura.

Es conveniente aclarar que este modelo se refiere exclusivamente a los efectos letales directos producidos por la temperatura, y no contempla efectos secundarios que puedan producir mortalidad indirecta, a largo plazo, a través de efectos subletales sobre el crecimiento, reproducción, etc. Por lo tanto se requiere conocer el rango de tolerancia no sólo para la supervivencia, sino también para el desarrollo normal de

funciones vitales críticas.

Es esencial además complementar la información que resulta de trabajos experimentales del tipo que aquí se describen, con estudios in situ con el fin de:

- a) Conocer la distribución espacial y estacional de la "pluma térmica" en el cuerpo de agua, para delimitar la zona afectada por la descarga. La información del modelo de resistencia térmica puede ser entonces utilizada para predecir la supervivencia de organismos que atraviesan esta zona de gradiente térmico, tratando las exposiciones sucesivas en forma aditiva (10).
- b) Conocer la distribución y dinámica poblacional de la especie de interés para poder estimar los efectos potenciales sobre el total de la población.

Agradecimientos:

Se agradece a todo el personal de la Estación de Piscicultura de Chascomús, Pcia. de Buenos Aires, y en particular al Sr. Emilio Verasain por la colaboración prestada, gracias a la cual fue posible la obtención del material utilizado en las experiencias.

REFERENCIAS

- (1) Spurr, G. y Parkansky, D., 1971: "Capacidad de enfriamiento del Lago Embalse Río III", Anexo II del Proyecto de Estudios Preoperacionales de la Zona Embalse, Córdoba, Gerencia de Prot. y Seguridad, Comisión Nacional de Energía Atómica.
- (2) Regalado, T.G. y Mastrarrigo, V., 1948: "Piscicultura - El Pejerrey", Publ. Misc. N°268 de la Dirección de Piscicultura, Pesca y Caza Marítima, Min. de Agric.: 51 pp.
- (3) Ringuelet, R.A., Aramburu, R.H. y Alonso de Aramburu, A., 1967: "Los Peces Argentinos de Agua Dulce", Com. de Investig. Científ. de la Pcia. de Bs.As.: 467-473.
- (4) Susuki, N. y Koyama, S., 1969: Boletín informativo del criadero de peces de agua dulce de Kanagawa-ken, Japón, N°6.
- (5) Coutant, C.C., 1971: "Effects on Organisms of Entrainment in Cooling Water: Steps toward Predictability", Nuclear Safety 12(6): 600-607.
- (6) Coutant, C.C., 1975: "Thermal Effects", Journal Water Pollution Control Fed. 47 (6): 1656-1711.
- (7) Templeton, W.L. and Olson, R.J., 1971: "Predictive Model of Mortality of Young Fish in a Thermal Plume", BNWL-SA-3915 (CONF-710501-43).
- (8) "Thermal Discharges at Nuclear Power Stations - Their Management and Environmental Impacts", IAEA Techn. Rep. Series 155, Capítulo 5, 1974.
- (9) Templeton, W.L. and Coutant, C.C., 1971: "Studies on the biological effects of thermal discharges from nuclear reactors to the Columbia River at Hanford" en "Environmental Aspects of Nuclear Power Stations", IAEA STI/PUB/261.
- (10) Coutant, C.C.: "Physiological considerations of future thermal additions for aquatic life", CONF-740944-1:43 pp.
- (11) Brett, J.R., 1951: "Temperature tolerance in young Pacific salmon, Genus *Oncorhynchus*", J. Fish. Res. Bd. Can. 9 (6): 265-323.
- (12) Hutchinson, V.H., 1961: "Critical Thermal Maxima in Salamanders" Physiol. Zool. 34: 92-106.

- (13) Cox, D.K., 1974: "Effects of three heating rates on the Critical Thermal Maximum of Bluegill", CONF-730505: 158-163.
- (14) McCormick, J.H., Hokanson, K.E.F. and Jones, B.R., 1972: "Effects of temperature on growth and survival of young brook trout, *Salvelinus fontinalis*", J.Fish. Res. Bd. Canada 29: 1107-1112.
- (15) Fry, F.E.J., Hart, J.S. and Walker, K.F., 1946: "Lethal Temperature Relations for a Sample of Young Speckled Trout, *Salvelinus fontinalis*", Univ. of Toronto Studies, Biological Series 54, Publ. Ontario Fish. Res. Lab. 66: 9-34.
- (16) Gibson, M.B., 1954: "Upper lethal temperature relations of the guppy, *Lebistes reticulatus*", Can. J. of Zoology 32: 393-407.
- (17) Análisis químico. Obras Sanitarias de la Nación, Dirección de Química y Tecnología, 1965.
- (18) Schneider, M.J., 1972: "Effect of Thermal History on the Resistance of Columbia River Steelhead Trout (*Salmo gairdneri*) to Thermal Stress", BNWL-1650, Pt.2, Vol. 1.
- (19) Griffiths, J.S. and Alderdice, D.F., 1972: "Effects of acclimation and acute temperature experience on swimming speed of juvenile coho salmon", J. Fish. Res. Bd. Canada 29: 251-264.
- (20) Cherry, D.S., Dickson, K.L. and Cairns, J., 1974: "The Use of a Mobile Laboratory to Study Temperature Response of Fish", Engineering Bull. of Purdue Univ. 145: 129-140.
- (21) Coutant, C.C., 1973: "Effects of Thermal Shock on Vulnerability of Juvenile Salmonids to Predation", J. Fish. Res. Bd. Canada 30: 965-973.
- (22) Fry, F.E.J., 1967: "Responses of Vertebrate *Poikilotherms* to Temperature", Cap. 11 en "Thermobiology", Ed. A.H. Rose, Academic Press.
- (23) Bliss, C.I., 1937: "The calculation of the time-mortality curve", Ann. Appl. Biology 24: 815-852.
- (24) Bliss, C.I., 1935: "The calculation of the dosage-mortality curve", Ann. Appl. Biol. 22: 134-167.

- (25) Hald, A., 1952: "Statistical Theory with Engineering Applications", Cap. 6, John Wiley and Sons: 783 pp.
- (26) Hald, A., 1949: "Maximum Likelihood Estimation of the Parameters of a Normal Distribution which is truncated at a known point", Skandinavisk Aktuarietidskrift 32: 119-133.
- (27) Stevens, W.L., 1937: "The Truncated Normal Distribution", Appendix in Ann. Appl. Biol. 24.
- (28) Brock, T.D., 1975: "Predicting the Ecological Consequences of Thermal Pollution from observations on Geothermal Habitats" en "Environmental Effects of Cooling Systems at Nuclear Power Plants", IAEA STI/PUB/378: 599-622.
- (29) Becker, C.D., 1972: "Thermal Resistance of Columbia River Fishes", BNWL-1650, Vol. 1, Pt. 2.
- (30) Marini, T.L., 1939: "Trabajos de Piscicultura en el Embalse de Río III", Physis XVIII: 3-16.
- (31) Boschi, E.E. y Fuster de Plaza, M.L., 1959: "Estudio biológico pesquero del pejerrey del Embalse de Río III (*Basilichthys bonariensis*)", Publ. N°8 del Dep. de Investig. Pesqueras, Sec. de Agric. y Ganad.: 61 pp.
- (32) "Proyecto de Estudios Preoperacionales de la Zona Embalse Córdoba". Informe Interno, Gerencia de Protección Radiológica y Seguridad, C.N.E.A. 1976.

TABLA I

Largo, peso y factor de condición (K), con desviaciones standard, de los peces utilizados en las experiencias de impacto térmico.

Temp. de exposición (°C)	Peso (g.)	Longitud standard (cm.)	Longitud total (cm.)	Factor de condición (K) (g/cm. ³)
35	0,37 ± 0,24	3,6 ± 0,7	4,3 ± 0,8	0,41 ± 0,04
34	0,32 ± 0,13	3,5 ± 0,5(*)	4,2 ± 0,6	0,42 ± 0,07
33	0,96 ± 0,54	4,5 ± 0,7	5,4 ± 0,9	0,57 ± 0,08
32	0,55 ± 0,20	3,8 ± 0,5	4,5 ± 0,6	0,58 ± 0,10

(*) Peso húmedo, previo a la fijación con formol 5%.

$$K = \frac{\text{Peso (en gramos)} \cdot 100}{\text{Longitud total (en cm.)}}$$

TABLA II

Tiempos medios de resistencia (t_{50}) y desviaciones standard (en minutos), y número total sobre el cual se calculó el resultado, para juveniles de pejerrey aclimatados a 28°C y sometidos a experiencias de impacto térmico.

Temperatura de exposición (°C)	Tiempo medio de resistencia y desviación standard (en minutos)	Número total de individuos N
35	32,3 $\pm$ 6,2	75
34	95,7 $\pm$ 14,8	68
33	478,4 $\pm$ 180,7 (*) - 131,1	51
32	2916 $\pm$ 1052 (*) - 774	126

(*) Tiempo medio y desviación standard estimados a partir de la representación gráfica en unidades de probabilidad.

TABLA III

Fórmulas para las rectas de regresión que describen la resistencia térmica de juveniles de pejerrey aclimatados a 28°C, y medidas de ajuste a la distribución normal (P = unidad de probabilidad; x = tiempo de mortalidad (t) en minutos o su correspondiente transformación; $C_1 = g_1 / V(g_1)$ $C_2 = g_2 / V(g_2)$).

Temperatura de exposición (°C)	Recta obtenida a partir de la representación gráfica	Recta obtenida a partir de los parámetros calculados $\bar{x}$ y s.	Coeficientes (23) de: sesgo (g_1) curtosis (g_2)		r Coeficiente de correlación lineal
35	$P = -0,1133 + 0,1588 x$ (x = t)	$P = -0,1955 + 0,1584 x$ (x = t)	-0,0389 $C_1 = -0,1403$	-0,3061 $C_2 = -0,5584$	+0,997
34	$P = -1,3544 + 0,0665 x$ (x = t)	$P = -1,4451 + 0,0673 x$ (x = t)	-0,0434 $C_1 = -0,1492$	-0,0836 $C_2 = -0,1457$	+0,997
33	$P = -13,8740 + 7,0351 x$ (x = log t)	$P = -14,2680 + 7,1901 x$ (x = log t)	+0,3142 $C_1 = 0,9422$	+0,1664 $C_2 = 0,2538$	+0,989
32	$P = -20,8656 + 7,4654 x$ (x = log t)	-----	-----	-----	-----

FIGURA:1

BAÑO LETAL CON SISTEMA PARA EL CONTROL DE TEMPERATURA
EMPLEADO EN LAS EXPERIENCIAS DE IMPACTO TERMICO

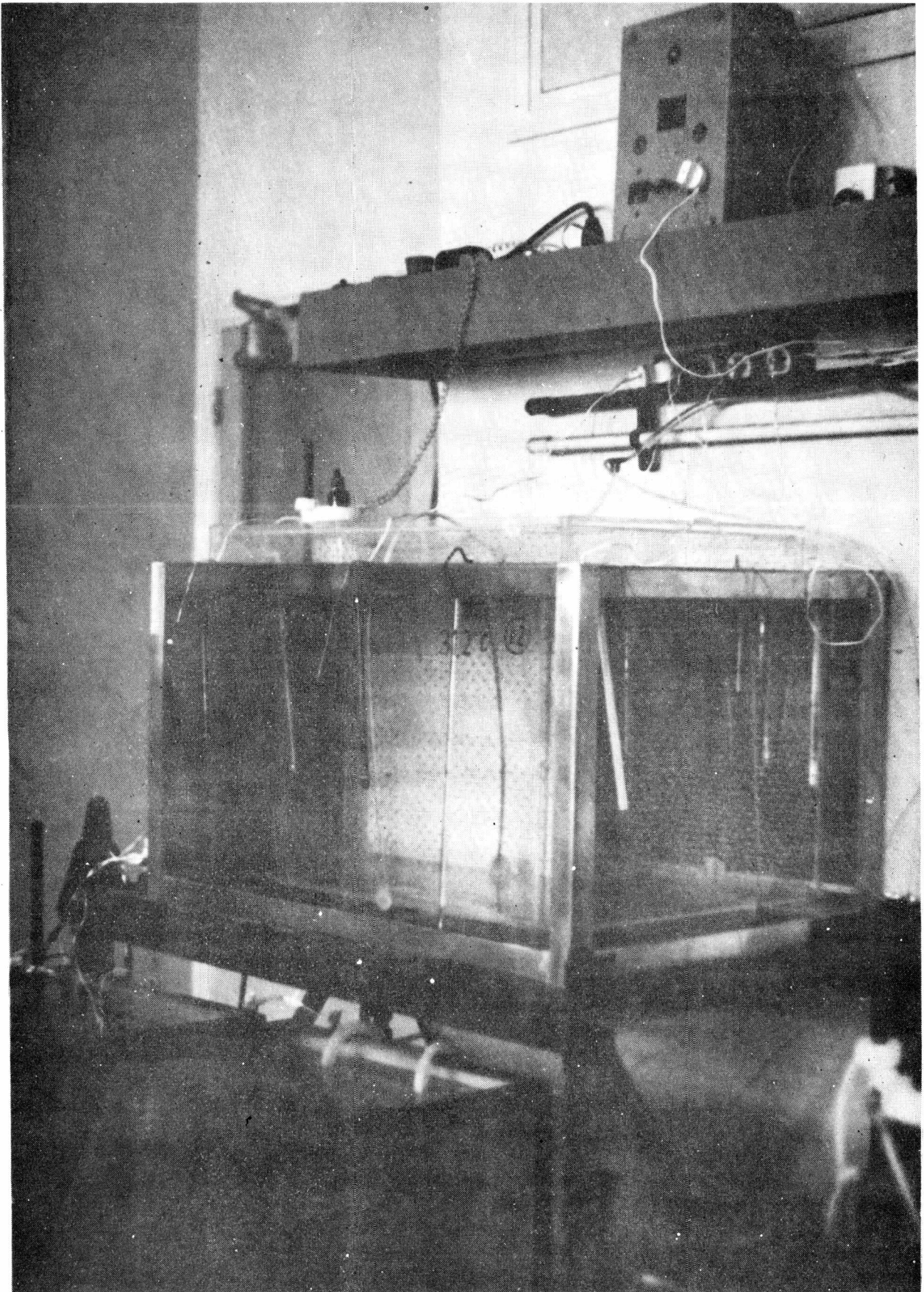


FIGURA:2

DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS PORCENTUALES ACUMULADAS DE LOS
TIEMPOS DE MORTALIDAD A 34°C, DE JUVENILES DE PEJERREY A-
CLIMATADOS A 28°C,

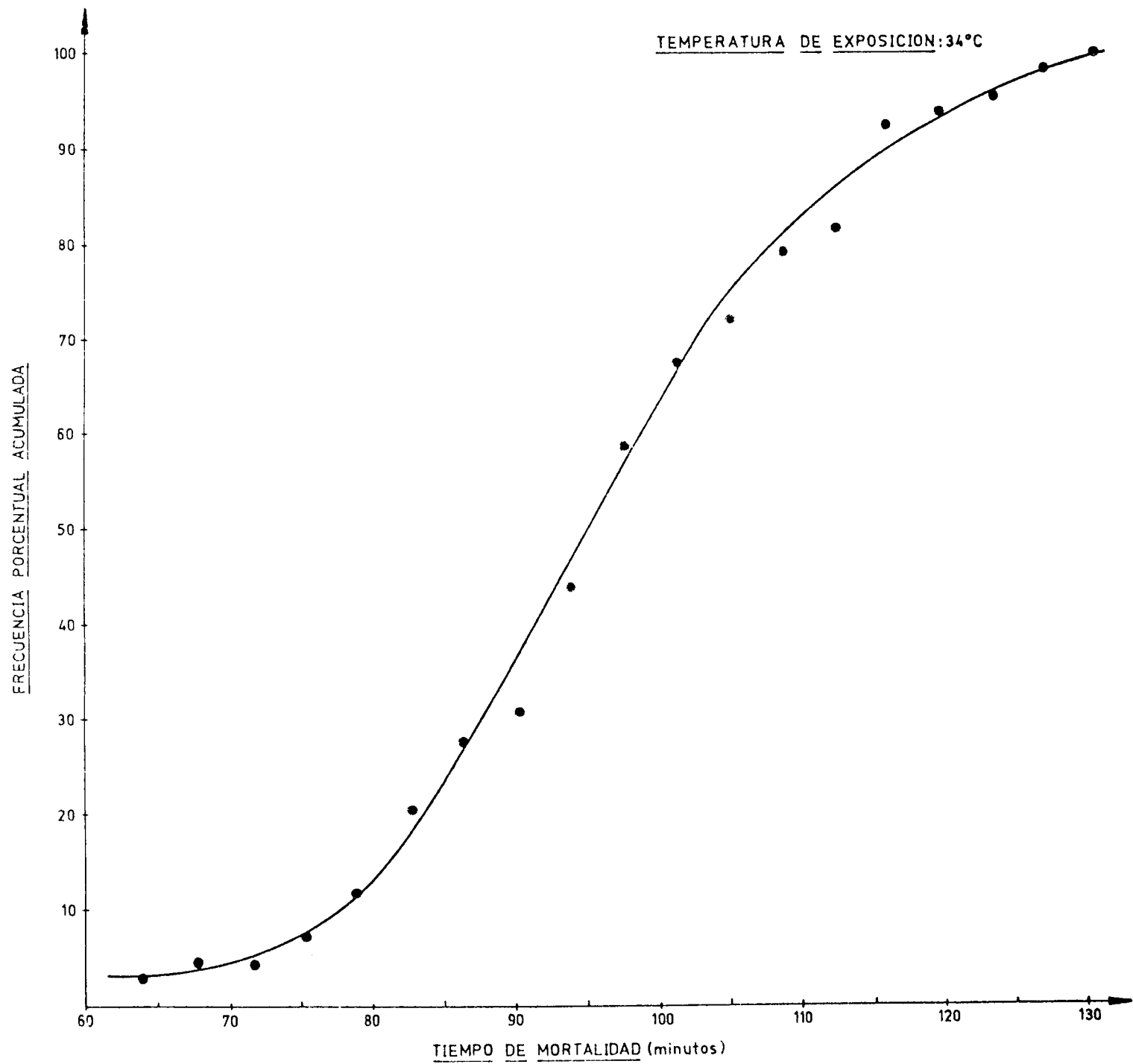


FIGURA: 3

TIEMPOS DE MORTALIDAD A UNA TEMPERATURA DE EXPOSICION DE 35°C, DE JUVENILES DE PEJERREY ACLIMATADOS A 28°C (N=75). EN EL EJE DE ORDENADAS SE INDICA LA ESCALA DE PROBABILIDADES (PORCENTAJE DE MORTALIDAD) Y LA ESCALA ARITMETICA (PROBITS O UNIDADES DE PROBABILIDAD), LA ECUACION CORRESPONDE A LA RECTA DE APROXIMACION POR MINIMOS CUADRADOS DEL CONJUNTO DE PUNTOS,

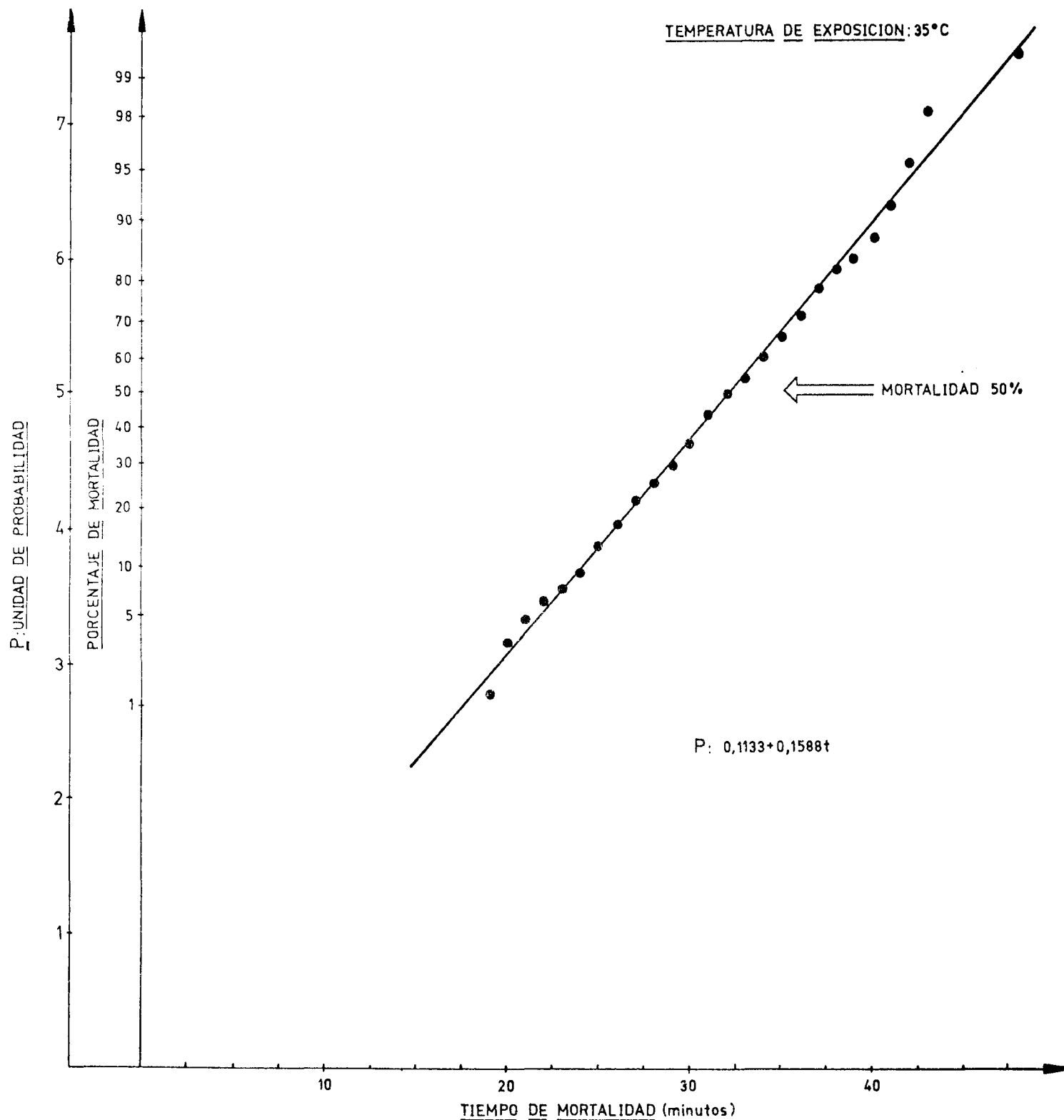


FIGURA:4

TIEMPOS DE MORTALIDAD A UNA TEMPERATURA DE EXPOSICION DE 34°C, DE JUVENILES DE PEJERREY ACLIMATADOS A 28°C (N=68). EN EL EJE DE ORDENADAS SE INDICA LA ESCALA DE PROBABILIDADES (PORCENTAJE DE MORTALIDAD) Y LA ESCALA ARITMETICA (PROBITS O UNIDADES DE PROBABILIDAD). LA ECUACION CORRESPONDE A LA RECTA DE APROXIMACION POR MINIMOS CUADRADOS DEL CONJUNTO DE PUNTOS.

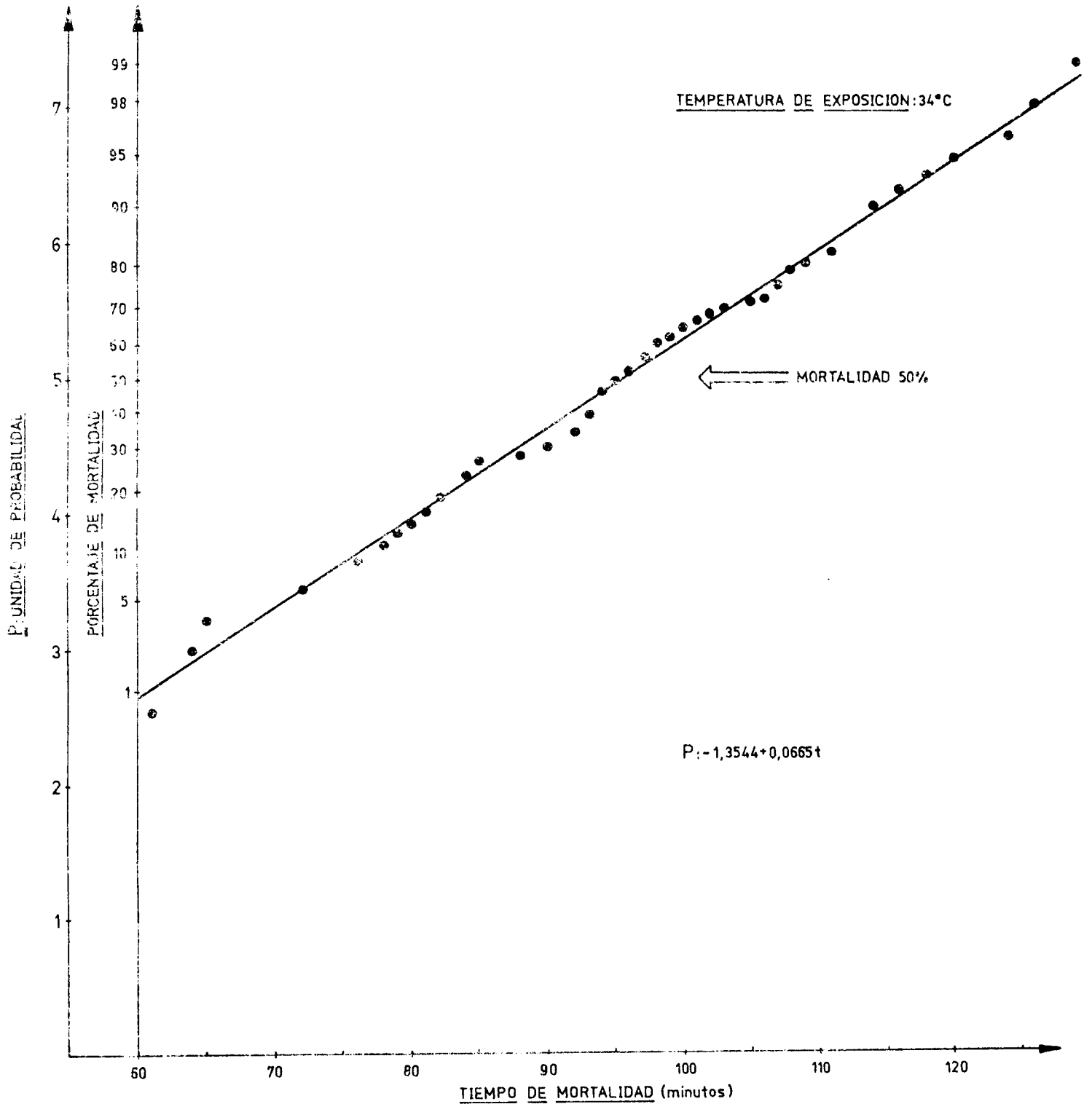


FIGURA:5

TIEMPOS DE MORTALIDAD CON UNA TEMPERATURA DE EXPOSICION DE 33°C, DE JUVENILES DE PEJERREY ACLIMATADOS A 28°C, EN EXPERIENCIAS DE 7200 MIN. (5 DIAS) DE DURACION (N=51), REPRESENTACION DE LOS TIEMPOS EN ESCALA LOGARITMICA, EN EL EJE DE ORDENADAS SE INDICA LA ESCALA DE PROBABILIDADES (PORCENTAJES DE MORTALIDAD) Y LA ESCALA ARITMETICA (PROBITS O UNIDADES DE PROBABILIDAD), LA ECUACION CORRESPONDE A LA RECTA DE APROXIMACION POR MINIMOS CUADRADOS DEL CONJUNTO DE PUNTOS.

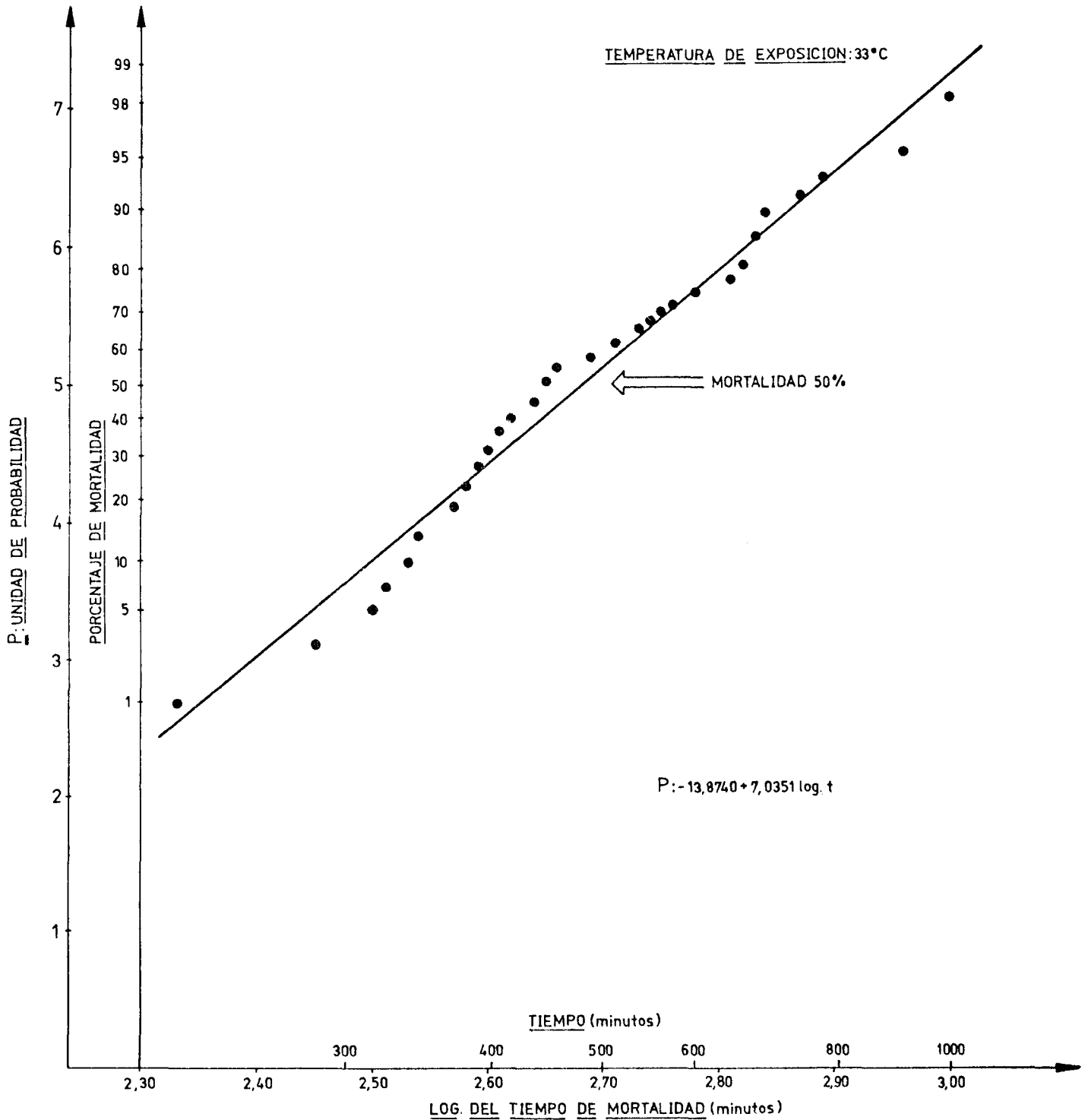


FIGURA:6

TIEMPOS DE MORTALIDAD CON UNA TEMPERATURA DE EXPOSICION DE 32°C, DE JUVENILES DE PEJERREY ACLIMATADOS A 28°C, EN EXPERIENCIAS DE 7200 MIN. (5 DIAS) DE DURACION (N=126), REPRESENTACION DE LOS TIEMPOS EN ESCALA LOGARITMICA. EN EL EJE DE ORDENADAS SE INDICA LA ESCALA DE PROBABILIDADES (PORCENTAJES DE MORTALIDAD) Y LA ESCALA ARITMETICA (PROBITS O UNIDADES DE PROBABILIDAD). LA ECUACION CORRESPONDE A LA RECTA DE APROXIMACION POR MINIMOS CUADRADOS DEL CONJUNTO DE PUNTOS.

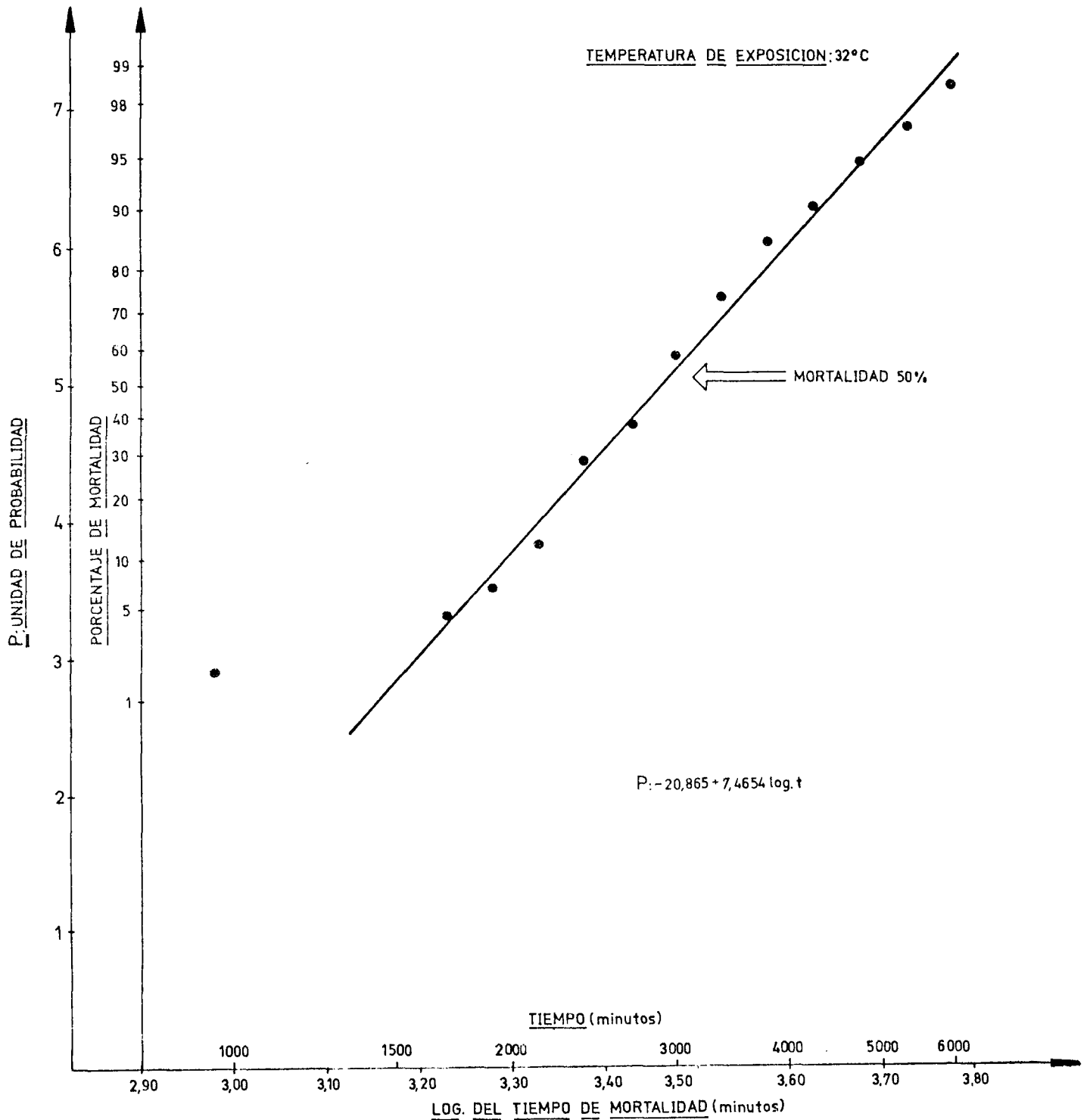


FIGURA :7

TIEMPOS MEDIOS DE RESISTENCIA (t_{50}), EN ESCALA LOGARITMICA, DE JUVENILES DE PEJERREY ACLIMATADOS A 28°C (EXPERIENCIAS DE 7200 MIN. = 5 DIAS DE DURACION), EL EXTREMO INFERIOR DE LA RECTA -32°C- O TEMPERATURA LETAL INCIPIENTE REPRESENTA EL LIMITE ENTRE LA ZONA DE RESISTENCIA Y LA ZONA DE TOLERANCIA, LA ECUACION CORRESPONDE A LA RECTA DE APROXIMACION POR MINIMOS CUADRADOS.

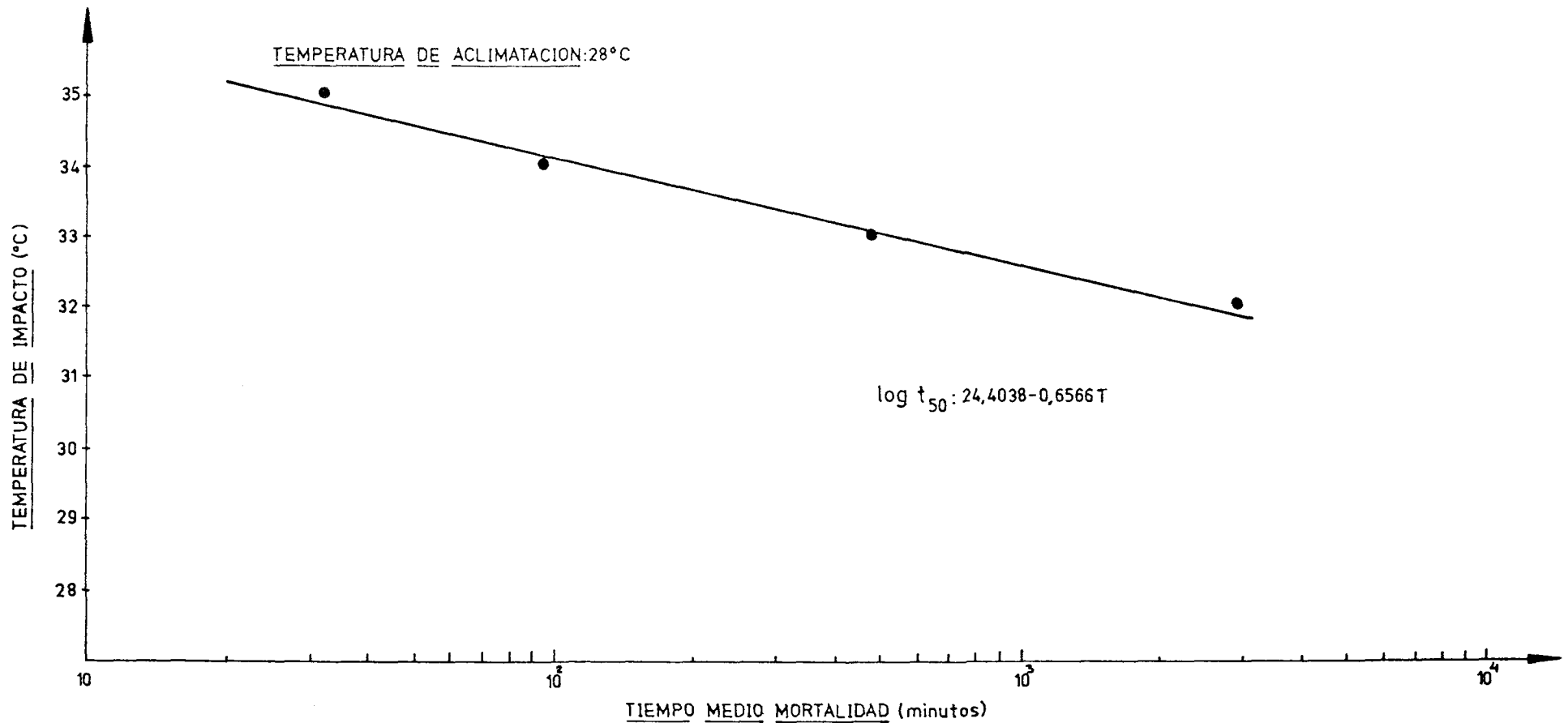


FIGURA :8

RELACIONES TIEMPO-TEMPERATURA PARA UNA SUPERVIVENCIA DEL 50%, DE UN PEZ HIPOTETICO EN BASE A ENSAYOS DE IMPACTO TERMICO. EN LA PRACTICA SE ELIGIO COMO LIMITE PARA LOS ENSAYOS UNA DURACION DE, POR EJEMPLO, DIAS (7200 MIN.), PARA CADA TEMPERATURA DE ACLIMATACION LOS TIEMPOS MEDIOS DE RESISTENCIA A DISTINTAS TEMPERATURAS EXPERIMENTALES HAN SIDO AJUSTADOS POR UNA RECTA DE REGRESION. LOS EXTREMOS INFERIORES DE 5 LAS RECTAS, MAS ALLA DE LOS CUALES NO SE PRODUCE MORTALIDAD DEL 50%, REPRESENTAN LAS TEMPERATURAS LETALES INCIPIENTES QUE SERARAN LA ZONA DE RESISTENCIA DE LA DE TOLERANCIA (ADAPTADO DE COUTANT (5)).

