

Efectos del nitrato de sodio y el nitrato de amonio sobre *Alytes obstetricans*.

Núria Garriga^{1,2}, Gustavo A. Llorente^{1,2} y Albert Montori^{1,2}

¹. Departament de Biologia Animal de la Universitat de Barcelona

². Asociación Herpetológica Española



INTRODUCCIÓN

Se está llevando a cabo un proyecto de recuperación de las poblaciones de anfibios en el Delta del Llobregat. En esta zona hay una elevada actividad agrícola, y por lo tanto es susceptible de presentar concentraciones elevadas de nitratos y amonios, debido al uso de fertilizantes. Se considera que estos compuestos tienen un impacto negativo sobre las poblaciones de anfibios, aunque sus efectos son muy diferentes según las especies (Ortiz et al. 2004; Smith et al. 2005; Ortiz-Santaliestra et al. 2006; Griffis-Kyle and Ritchie 2007).

Dentro del proyecto de recuperación se incluye la translocación de dos especies de anfibios, *Bufo calamita* y *Alytes obstetricans*, de las cuales solo se tienen datos del efecto del nitrato amonio sobre la primera de ellas.

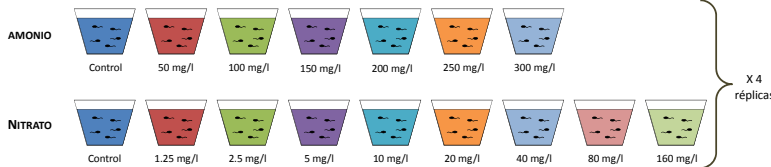
En el presente trabajo se analiza el efecto del nitrato sódico y el nitrato de amonio sobre *A. obstetricans*, bajo condiciones experimentales. Esto permitirá valorar la viabilidad de esta especie en la zona de desarrollo del proyecto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se colectaron larvas del mismo tamaño y estadio de crecimiento de *A. obstetricans* de una charca de Barcelona. Las larvas se crían en el laboratorio hasta alcanzar el estadio Gosner 25 (Gosner, 1960), momento en el que se transfirieron a los contenedores de 4 litros con 2.5 litros de disolución. En cada contenedor había 5 individuos, obteniendo así una densidad de 1 individuo cada medio litro.

Se preparó una serie de 9 concentraciones crecientes de NO_3^- (0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 160 mg/l) a partir de NaNO_3 , y 7 concentraciones crecientes de NO_2NH_4 (0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 mg/l). La exposición a los dos compuestos duró dos semanas, y posteriormente se mantuvieron 15 días más con agua sin contaminante. Se anotó la mortalidad a los 4, 7, 14, 21 y 28 días y se tomaron fotos de los individuos una vez por semana hasta el fin del experimento para medir los individuos y así estimar su crecimiento, crecimiento relativo (respecto al control) y crecimiento semanal.

Los datos, una vez transformados logarítmicamente, se analizaron mediante un ANOVA de medidas repetidas con el programa SPSS 15.0.



En la tabla se muestran las acciones realizadas tanto para amonios como para nitratos.

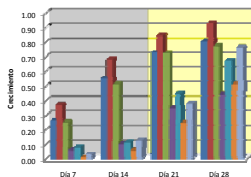


A partir de las fotos se midió la longitud y anchura del cuerpo y la longitud total con el programa Sigma Scan Pro 5.0

	Exposición a contaminante			Sin contaminante	
	Día 4	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
Cambio de agua		X	X	X	X
Datos de mortalidad	X	X	X	X	X
Fotos para medir		X	X	X	X

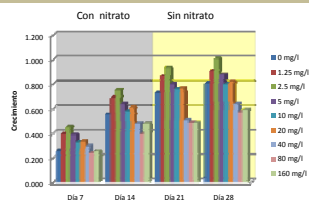
CRECIMIENTO

Incremento de longitud total desde el inicio, entre la longitud total inicial, expresado en tanto por 1.



Creixement menor con concentraciones mayores de 100 mg/l, sobre todo durante la exposición al contaminante. Después hay una recuperación.

NITRATO

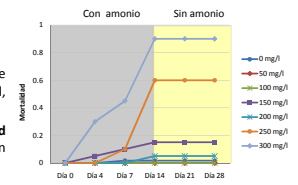


Creixement menor con concentraciones mayores de 20 mg/l, sobre todo después de la exposición al contaminante.

MORTALIDAD

Individuos muertos desde el inicio, entre la N inicial, expresado en tanto por 1.

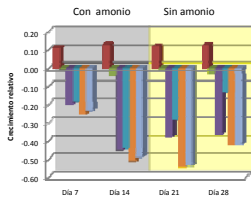
No se observó mortalidad en el experimento con nitrato sódico.



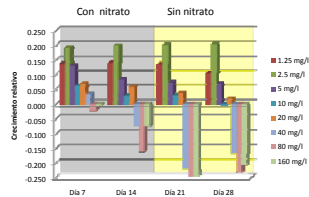
Se observa mortalidad de individuos con concentraciones mayores de 100 mg/l. Una vez retirado el contaminante no se observa más mortalidad.

CRECIMIENTO RELATIVO

Creixement de la longitud total observado para cada tratamiento respecto el creixement control.



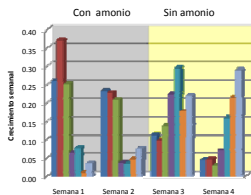
Con concentraciones mayores de 100 mg/l los individuos crecen menos que el control durante todo el experimento.



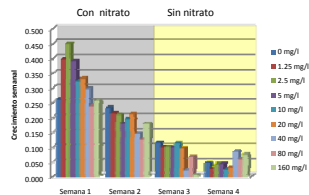
Con concentraciones mayores de 20 mg/l los individuos crecen menos que el control durante todo el experimento, sobre todo después de la exposición al contaminante.

CRECIMIENTO SEMANAL

Incremento de longitud total en una semana entre la longitud total al inicio de la misma, y expresado en tanto por 1.



Las semanas 1 y 2 crecen más los individuos con concentraciones menores de 100 mg/l mientras que las 3 y 4 crecen más con concentraciones mayores de 100 mg/l.



El crecimiento las semanas 1 y 2 se reduce con la concentración, la semana 3 es iguala y la semana 4 es algo mayor para concentraciones mayores a 40 mg/l.

ANOVA DE MUESTRAS REPETIDAS

	Test	Valor	F	gl de la hipótesis	gl del error	P	
Amonio	Mortalidad	Traza de Pillai	0.669	2.461	12	58	0.012
		Lambda de Wilks	0.347	3.256	12	56	0.001
		Traza de Hottelling	1.836	4.130	12	54	0.000
		Raiz mayor de Roy	1.810	8.748	6	29	0.000
Creixement	Traza de Pillai	1.573	4.777	18	78	0.000	
	Lambda de Wilks	0.033	8.839	18	68.368	0.000	
	Traza de Hottelling	13.075	16.465	18	68	0.000	
	Raiz mayor de Roy	11.952	51.793	6	26	0.000	
Creixement semanal	Traza de Pillai	1.397	3.775	18	78	0.000	
	Lambda de Wilks	0.049	7.264	18	68.368	0.000	
	Traza de Hottelling	11.267	14.187	18	68	0.000	
	Raiz mayor de Roy	10.570	45.804	6	26	0.000	
Nitrato	Creixement	Traza de Pillai	1.035	2.303	24	105	0.002
		Lambda de Wilks	0.208	2.881	24	96.311	0.000
		Traza de Hottelling	2.729	3.601	24	95	0.000
		Raiz mayor de Roy	2.322	10.160	8	35	0.000
Creixement semanal	Traza de Pillai	1.191	2.880	24	105	0.000	
	Lambda de Wilks	0.180	3.231	24	96.311	0.000	
	Traza de Hottelling	2.687	3.546	24	95	0.000	
	Raiz mayor de Roy	1.851	8.099	8	35	0.000	

Resultado de las ANOVAS de muestras repetidas.

En el experimento con amonios hay diferencias en la mortalidad para las diferentes concentraciones. Hay diferencias en el creixement y en el creixement semanal entre las distintas concentraciones de contaminantes tanto para amonios como para nitratos.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El experimento con nitrato de amonio muestra un efecto negativo de este producto sobre las larvas de *Alytes obstetricans*.

Las concentraciones mayores (250 y 300 mg/l) presentan mortalidades elevadas superiores al 50% de los individuos.

Los individuos sometidos a concentraciones superiores a 100 mg/l reducen el creixement, sobre todo cuando están expuestos al contaminante. No obstante, una vez finalizada la exposición al nitrato los individuos muestran una recuperación, incrementando su creixement.

El experimento con nitrato sódico no ha mostrado un efecto tan claro sobre las larvas de *A. obstetricans*, haciendo necesario repetir el experimento con concentraciones mayores. Aun así, se ha observado un menor creixement de los individuos sometidos a concentraciones mayores a 20 mg/l. Además, esta reducción del creixement se mantiene una vez finalizada la exposición al contaminante.

Los niveles de nitrato y amonio encontrados en masas de agua próximas a la zona de translocación son inferiores a los niveles que han mostrado efectos en este estudio experimental.

BIBLIOGRAFIA

- Griffis-Kyle K. L. and Ritchie M. E. 2007. Amphibian survival, growth and development in response to mineral nitrogen exposure and predator cues in the field: an experimental approach. *Oecologia* 152:633-642.
- Gosner K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16:183-190.
- Ortiz M. E.; Marco A.; Saiz N. and Lizana M. 2004. Impact of ammonium nitrate on growth and survival of six european amphibians. *Archives of environmental contamination and toxicology* 47: 234-239.
- Ortiz-Santaliestra M. E.; Marco A.; Fernández M. J. and Lizana M. 2006. Influence of developmental stage on sensitivity to ammonium nitrate of aquatic stages of amphibians. *Environmental toxicology and chemistry* 25(1): 105-111.
- Smith G. R.; Temple K. G.; Vaala D. A. and Digfelder H. A. 2005. Effects of nitrate on the tadpoles of two ranids (*Rana catesbeiana* and *R. clamitans*). *Archives of environmental contamination and toxicology* 49:559-562.