

Uso de Bacterias *Vibrio fischeri* para estimar el impacto ambiental por sustancias contaminantes presentes en aguas

Rodrigo Sarria-Villa¹

Martha Páez²

Resumen

Las diferentes actividades agrícolas, humanas e industriales que se llevan a cabo en el departamento del Valle están afectando el río Cauca. Los niveles de contaminación del río Cauca en su paso por el departamento del Valle fueron determinados por medio de ensayos de toxicidad, se utilizó la técnica de bioensayo de Microtox. Los extractos orgánicos y acuosos obtenidos a partir de los sedimentos de río también fueron evaluados. Los resultados de toxicidad en sedimentos fueron analizados en cuanto a su efecto tóxico. Los análisis de toxicidad fueron realizados en muestras de sedimentos superficiales tomadas en 8 estaciones de monitoreo a lo largo del departamento del Valle, durante los años 2010 y 2011. Los resultados de toxicidad mostraron correlación con los niveles de contaminantes orgánicos y metales pesados en algunas estaciones de monitoreo; sin embargo, algunos sitios presentaron bajos niveles de toxicidad en comparación con los niveles de otros contaminantes orgánicos, debido tal vez a otros factores ambientales que pueden afectar los resultados. Los resultados evidenciaron la capacidad de este tipo de bioensayos para realizar ensayos rápidos de ecotoxicidad.

Palabras clave: Contaminación; evaluación de riesgo; *Vibrio fischeri*.

¹ Departamento de Química, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia.

² Departamento de Química, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

Use of *Vibrio fischeri* bacteria to estimate the environmental impact of polluting substances present in water

Abstract

Different agricultural, human, and industrial activities carried out in the department of Valle are affecting the Cauca River, whose contamination levels, as it passes through the department, were determined by means of toxicity tests, using the biochemical technique Microtox assay. The organic and aqueous extracts obtained from the river sediments were also evaluated. The sediment toxicity results were analyzed for their toxic effect. The toxicity analyzes were performed on surface sediment samples taken in eight monitoring stations throughout the department, during the years 2010 and 2011. The toxicity results showed a correlation with the levels of organic pollutants and heavy metals in some monitoring stations. However, some sites presented low levels of toxicity compared to the levels of other organic pollutants, perhaps due to other environmental factors that may affect the results, which evidenced the capacity of this type of bioassay to carry out tests rapid eco-toxicity.

Keywords: Contamination; risk evaluation; *Vibrio fischeri*.

Uso da bactéria *Vibrio fischeri* para estimar o impacto ambiental de substâncias poluentes presentes na água

Resumo

As diferentes atividades agrícolas, humanas e industriais realizadas no departamento de Valle estão afetando o rio Cauca, cujos níveis de contaminação, ao passar pelo departamento, foram determinados por meio de testes de toxicidade, utilizando a técnica bioquímica Ensaio Microtox. Os extratos orgânicos e aquosos obtidos dos sedimentos do rio também foram avaliados. Os resultados da toxicidade do sedimento foram analisados quanto ao seu efeito tóxico. As análises de toxicidade foram realizadas em amostras de sedimentos superficiais coletadas em oito estações de monitoramento em todo o departamento, durante os anos de 2010 e 2011. Os resultados de toxicidade mostraram uma correlação com os níveis de poluentes orgânicos e metais pesados em algumas estações de monitoramento. No entanto, alguns locais apresentaram baixos níveis de toxicidade em relação aos níveis de outros poluentes orgânicos, talvez devido a outros fatores ambientais que podem afetar os resultados, o que evidenciou a capacidade desse tipo de bioensaio em realizar testes rápidos de eco-toxicidade.

Palavras-chave: Contaminação; avaliação de risco; *Vibrio fischeri*.

INTRODUCCIÓN

El cauce del río Cauca recibe múltiples descargas de tipo industrial (corredor industrial), municipal (cabeceras municipales y zona metropolitana de Cali) y rural (granjas, explotación agrícola), consideradas como fuentes de una gran variedad de contaminantes (minerales, orgánicos, biológicos). Este deterioro afecta tanto las perspectivas de desarrollo socioeconómico como la calidad de vida de los vallecaucanos y el equilibrio de los ecosistemas acuáticos y terrestres a lo largo del cauce del Valle del Cauca. “La importancia que tienen los estudios de metales pesados y contaminantes orgánicos en aguas y sedimentos radica en que algunos de estos presentan elevada toxicidad, alta persistencia y rápida acumulación en organismos vivos” (Reyes et al., 2016, p. 71). Hoy en día, el control de la calidad de los sedimentos está siendo considerado con la calidad de las aguas de los ríos (Borja., et al., 2004). La protección de los sedimentos presentes en los ríos es necesaria por ser sumidero y fuente de contaminantes hacia la columna de agua (Chau, 2006). Los sedimentos integran concentraciones de contaminantes sobre el tiempo, mientras que en el agua son más variables y dinámicos (Ayyamperumal et al., 2006); la toxicidad de los sedimentos puede afectar los organismos bénticos y otros organismos que hacen parte de la cadena alimenticia (Moreno-Garrido et al., 2007). Los sedimentos son también parte integral del ambiente acuático, proporcionan hábitat y áreas de alimentación y cría de diferentes tipos de organismos (Ocampo-Duque et al., 2008). Aunque el análisis químico proporciona datos sobre la concentración ambiental de contaminantes, este da poca información sobre biodisponibilidad y/o toxicidad en el sitio, por lo tanto, los análisis biológicos combinados con análisis químicos son esenciales para deducir los probables efectos biológicos adversos (Chapman, 2007).

Así, los sedimentos pueden actuar como posibles fuentes de contaminación, porque los contaminantes no se quedan permanentemente en ellos y pueden ser liberados a la columna de agua por cambios en las condiciones ambientales o de algunos parámetros fisicoquímicos con gran influencia sobre la toxicidad y la incorporación de contaminantes por la biota acuática. El pH, la dureza del agua, la concentración de iones hidroxilo, el potencial redox (Kelderman y Osman, 2007) son algunos de los factores que afectan el comportamiento de los contaminantes. Por lo tanto, el análisis de contaminantes en sedimentos permite complementar el análisis de su presencia en las aguas y también proporciona información acerca de las zonas críticas del sistema acuático (Moalla, et al., 1998).

Dentro de los estudios de contaminación por contaminantes orgánicos y metales pesados en ecosistemas acuáticos, los sedimentos constituyen un material fundamental para conocer el grado de contaminación de determinada zona. En sedimentos se pueden desarrollar dos tipos de determinaciones: la concentración total del contaminante, que proporciona una evaluación del nivel de contaminación, y la especiación en el caso de los metales, que permite estudiar las diferentes formas químicas en las que se encuentra el metal. Esta última proporciona información

respecto a la biodisponibilidad en unas determinadas condiciones medioambientales. La necesidad de selección rentable y rápida de las metodologías para evaluar la toxicidad química han conducido al desarrollo de pruebas basadas en microorganismos, siendo los sedimentos comunidades microbianas principalmente de bacterias que juegan un papel importante en la descomposición de la materia orgánica y destino del contaminante acuático (Ocampo-Duque et al., 2008). De esta manera, el *Vibrio fischeri*, prueba de inhibición de luminiscencia, parece ser una de las pruebas de toxicidad de selección más prometedoras (Evgenidou et al., 2005).

Materiales y Métodos

Área de estudio y muestreo

El muestreo se realizó en 8 de las 19 estaciones establecidas por la CVC (Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca), durante junio, octubre de 2010 y mayo de 2011 en SP1 (La Balsa), SP2 (Hormiguero), SP3 (Juanchito), SP4 (Puerto Isaacs), SP5 (Paso de la torre), SP6 (Mediacanoa), SP7 (Puente Guayabal) y SP8 (Anacaro). Las muestras de sedimentos fueron tomadas de forma compuesta en una zona de tres metros, recogiendo 100 gramos de sedimento cada metro. Todas las muestras fueron trasladadas en neveras de icopor que contenían hielo al laboratorio y almacenadas a -20 °C en el refrigerador. Las muestras de sedimentos fueron liofilizadas, homogenizadas y pasadas a través de un tamiz de acero inoxidable de 63 micras. Un sistema de posicionamiento global (GPS) se utilizó para localizar las estaciones de muestreo.

Análisis ecotoxicológico

Preparación de la muestra

Para evaluar la toxicidad de sedimentos, se analizaron extractos de muestras de sedimento en solventes acuosos y orgánicos, con el fin de distinguir entre la toxicidad que proviene de agentes contaminantes polares y no polares (Hyötyläinen y Oikari, 1999). El lixiviado acuoso se obtuvo de mezclar 10 g de sedimento húmedo con 20 mL de solución al 2 % de NaCl con agitación durante 12 h y, finalmente, se filtró sobre membranas de celulosa con diámetro de poro de 0.47 micrómetros. Una relación sedimento: agua 1:2 fue usada por ser una proporción conveniente en experimentos de toxicidad bacteriana de extractables. La extracción orgánica fue analizada según el método de la EPA 3546 (US EPA, 2007), añadiendo 5.0 g de sulfato de sodio anhidro y 30 mL de acetona: hexano (1:1) a 2.0 g de sedimento seco. La mezcla fue tratada durante 20 minutos en un digestor de microondas (Mars X) con temperatura controlada (115 °C). Los extractos fueron filtrados y evaporados, y el residuo resultante disuelto en 4 mL de dimetil sulfoxido (DMSO).

Pruebas de toxicidad

Los bioensayos de Microtox se llevaron a cabo sobre extractos acuosos y orgánicos de las muestras de sedimentos, para ello se usó un analizador Modelo 500 (SDI, 2008). Este bioensayo expone la bacteria luminiscente (*Vibrio fischeri*) a muestras en medios acuosos y mide el aumento o disminución en la producción de luz por los organismos. El test básico del 90 % para extractos acuosos, adecuado para muestras con toxicidad baja, se realizó con los sedimentos, partiendo de una dilución del 90 % del extracto y realizando 1:2 diluciones sucesivas (es decir, el 90 %, el 45 %, el 22,5 % y el 12,5 %). Los extractos orgánicos, tratados con DMSO, fueron diluidos en Microtox® hasta dar una solución de una concentración final del 1 %. El test básico fue realizado cuatro veces con 1:2 diluciones sucesivas. La determinación de la toxicidad fue hecha después de 15 minutos de iniciada la prueba. Un modelo logarítmico lineal fue usado para determinar la concentración eficaz del 50 % (EC50) con un límite de confianza del 95 % (Azur Environmental, 1999). Los porcentajes de diluciones de extracto acuosos-orgánicas fueron comparados con los de otros autores (Bombardier y Bermingham, 1999). El método se basó en determinar la toxicidad aguda de la muestra sobre una población de 10^6 bacterias de la especie *Vibrio fischeri* (bacteria bioluminiscente), a través del cambio en la intensidad de luz emitida después de un período controlado de exposición de 15 minutos a $15 \pm 1^\circ\text{C}$. Se evaluaron muestras moderadamente tóxicas, muy tóxicas y de toxicidad no detectada, como control positivo sulfato de zinc heptahidratado y control negativo cloruro de sodio. El proceso de validación se realizó con el fin de cumplir con los requisitos técnicos señalados en la Norma NTC/ISO: 17025, para la acreditación del Laboratorio de Investigaciones Ambientales. Se estableció el rango de trabajo de 10-95 % de inhibición. Los coeficientes de variación del método se encontraron por debajo del 20 %.

También se establecieron los valores límites de control para el sulfato de zinc heptahidratado de 9.67 ppm y cloruro de sodio 2 %. La intensidad de la luz emitida por las bacterias expuestas a la muestra problema se compara con la emitida por bacterias que permanecen en las condiciones óptimas del sistema control. Ante la presencia de sustancias tóxicas, la luminiscencia de *V. fischeri* disminuye de forma proporcional a la carga tóxica en la muestra problema. Este decaimiento se produce como resultado del daño ocasionado a los procesos metabólicos asociados con la respiración bacteriana. Este ensayo es aplicable en estudios de toxicología acuática, control legal de descargas agrícolas, industriales y municipales, evaluación de procesos de tratamiento y estudios integrales de contaminación, entre otros. La toxicidad aguda se expresa como la concentración efectiva media (CE_{50}), que es la concentración estimada de material que causa un efecto no letal detectado por la reducción del 50 % de la intensidad luminosa generada por una población de 10^6 bacterias, las unidades pueden estar en porcentaje, mL/L, mg/L, eq. Mg/mL o cualquier otra unidad acorde con el tipo y manejo de muestra que se analice.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se muestra los resultados de los ensayos ecotoxicológicos, se presentan los resultados de toxicidad para extractos orgánicos e inorgánicos. La clasificación de la toxicidad se hizo de acuerdo a los criterios de Bombardier y Bermingham (1999). De acuerdo a estos criterios existen cuatro niveles de clasificación de toxicidad, para extractos orgánicos se usaron niveles de dilución de EC50 (μL de DMSO por mL de solvente) y para extractos acuosos se emplearon porcentajes de dilución de valores de EC50. Los rangos seleccionados para ambos extractos fueron No tóxico ($\geq 100\%$, $\geq 1 \mu\text{L}/\text{mL}$), marginalmente tóxico ($10-99\%$, $0.1-0.9 \mu\text{L}/\text{mL}$), moderadamente tóxico ($1-9\%$, $0.01-0.09 \mu\text{L}/\text{mL}$) y altamente tóxico ($<1\%$, $<0.01 \mu\text{L}/\text{mL}$). De esta manera se pudo determinar toxicidad en los extractos obtenidos de los sedimentos del río Cauca, para extractos acuosos en el muestreo de junio de 2010 se observó no toxicidad para las muestras tomadas en La Balsa (SP1), Puerto Isaacs (SP4), Paso de la Torre (SP5) y Anacaro (SP8); mientras que en Hormiguero (SP2), Juanchito (SP3) y Mediacanoa (SP6), el resultado fue marginalmente tóxico; en Guayabal (SP7), el resultado fue moderadamente tóxico.

Para extractos orgánicos en el muestreo realizado en junio de 2010 se observó alta toxicidad en Hormiguero (SP2), Juanchito (SP3), Puerto Isaacs (SP4), Paso de la Torre (SP5), Mediacanoa (SP6) y Guayabal (SP7).

Para el muestreo realizado en octubre de 2010, se encontró para extractos acuosos no toxicidad en La Balsa (SP1), Hormiguero (SP2), Puerto Isaacs (SP4), Paso de la Torre (SP5), Mediacanoa (SP6) y Anacaro (SP8); (SP3) y (SP7) presentaron toxicidad marginal; para extractos orgánicos se observó alta toxicidad en La Balsa (SP1), Paso de la Torre (SP5) y Guayabal (SP7); en Hormiguero (SP2), Puerto Isaacs (SP4) y Anacaro (SP8) se observó toxicidad moderada; en Juanchito (SP3) y Mediacanoa (SP6) se observó no toxicidad.

Para el muestreo realizado en mayo de 2011 se encontró para extractos acuosos no toxicidad en La Balsa (SP1), Hormiguero (SP2), Juanchito (SP3), Puerto Isaacs (SP4), Paso de la Torre (SP5), Guayabal (SP7) y Anacaro (SP8); en Mediacanoa (SP6) se observó toxicidad moderada; para extractos orgánicos se observó no toxicidad en La Balsa (SP1), Hormiguero (SP2), Paso de la Torre (SP5), Guayabal (SP7) y Anacaro (SP8); para extractos obtenidos de las muestras de Juanchito (SP3), Puerto Isaacs (SP4) y Mediacanoa (SP6) el resultado fue marginalmente tóxico.

De acuerdo con los resultados de toxicidad, se pudo determinar que la mayoría de contaminantes estuvieron presentes en la fase orgánica, indicando el posible lavado de contaminantes solubles en la fase acuosa y la baja solubilidad de los contaminantes orgánicos en agua; a eso se le suma la adsorción de los contaminantes orgánicos a la materia orgánica presente en los sedimentos. Estudios realizados por Grant y Briggs (2002) han mostrado mejores resultados del ensayo de microtox para extractos orgánicos que para los acuosos.

En los resultados de la prueba de toxicidad para extractos orgánicos de muestras de sedimentos tomadas durante junio de 2010 mostraron que los sitios con grados de

toxicidad más altos fueron Hormiguero, Juanchito, Puerto Isaacs, Paso de la Torre y Puente Guayabal. Cabe señalar que, cerca de Hormiguero se encuentra ubicada una planta de producción de papel y cultivos, principalmente de caña de azúcar; en Juanchito se presenta gran influencia por población de la ciudad de Cali, cultivos y límite con el municipio de Candelaria; en Puerto Isaacs y Paso de la Torre presentan influencia de la actividad industrial de la zona de Yumbo y la descarga de las aguas del río Cali al río Cauca, después de atravesar la ciudad de Cali, la cual cuenta con más de dos millones de habitantes; el sitio de Puente Guayabal se encuentra ubicado al norte del departamento del Valle, donde ya el río ha recibido las descargas por actividades industriales y agrícolas, después de haber recorrido gran parte del departamento. Para extractos acuosos, la mayor toxicidad se presentó en Hormiguero, Juanchito, Mediacanoa y Guayabal, sitios afectados por actividades como la minería, industria, agrícolas, entre otras.

Las pruebas de toxicidad de las muestras tomadas en octubre de 2010 mostraron para extractos orgánicos alta toxicidad en La Balsa, Paso de la Torre y Puente Guayabal; para extractos acuosos la mayor toxicidad fue observada en Juanchito y Puente Guayabal. La Balsa (SP1) está ubicada en el departamento del Cauca con límite con el departamento del Valle, a pesar de no recibir cargas de contaminantes de grandes ciudades como Cali, el río viene arrastrando en su cauce contaminantes que son descargados en la ciudad de Popayán, ciudad con un crecimiento demográfico importante en los últimos años y la cual no cuenta con planta de tratamiento de aguas residuales. Es importante tener en cuenta que algunos de los contaminantes analizados son de alta persistencia y pueden permanecer en el medio acuoso por un tiempo considerable.

Las pruebas de toxicidad de muestras tomadas en mayo de 2011 mostraron para extractos orgánicos toxicidad marginal en Juanchito, Puerto Isaacs y Mediacanoa; para extractos acuosos se observó toxicidad moderada en Mediacanoa. De acuerdo con estudios realizados, las aguas del río Cauca, a través del test de Ames, presentaron una actividad mutagénica con las cepas de *Salmonella Typhimurium* TA98 y TA100, en los puntos de muestreo Hormiguero, CVC-Sur, PTAR de Puerto Mallarino y Juanchito. El canal de recolección CVC-Sur presentó la más alta respuesta en el ensayo mutagenicidad con las cepas TA98 y TA100, con y sin activador enzimático, lo cual indica que los extractos de las aguas del río Cauca contienen sustancias (metales pesados y compuestos orgánicos) que causan mutaciones en el marco de lectura y cambio de pares de bases en el ADN de manera directa e indirecta (Táquez, 2011).

El departamento del Valle presenta más de 200,000 hectáreas cultivadas con caña de azúcar, las cuales abastecen 13 ingenios productores de caña de azúcar en la región. Esta actividad, como otro tipo de actividades agrícolas, emplea gran cantidad de fertilizantes agrícolas, plaguicidas y agroquímicos, que contaminan de una u otra forma los diferentes cuerpos de agua. Tanto en el departamento del Valle como en el departamento del Cauca existe una importante actividad minera para la extracción de oro, bauxita, carbón, entre otros. Igualmente, en la zona industrial del departamento del Valle se produce acero, aluminio, papel, pinturas, entre otros. La actividad de las curtiembres en el municipio del Cerrito utiliza una importante cantidad de cromo para su producción (Corporación Autónoma del Valle del Cauca [CVC], 2005).

Tabla 1

Resultado de pruebas de ecotoxicidad con Vibrio Fischeri para sedimentos colectados en el río Cauca en su paso por el departamento del Valle (Colombia)

Si- tio	Muestreo Junio 2010 (I)				Muestreo Octubre 2010 (II)				Muestreo Mayo 2011 (III)			
	EC50 Extractos acuosos		EC50 Extractos orgánicos		EC50 Extrac- tos Acuosos		EC50 Extractos orgánicos		EC50 Extrac- tos acuosos		EC50 Ex- tractos orgánicos	
SP1	>100	No-Tox	3.34 (1.30-6.82)	Mo- dTox	>100 (-)	No-Tox	0.72 (0.43-1.05)	Hi-Tox	1.09 (1.07-1.11)	No-Tox	>100	No-Tox
SP2	50	Ma-Tox	0.93 (0.001-3.22)	Hi-Tox	>100	No-Tox	7.39 (0.001-43.89)	Mo-Tox	1.01 (0.89-1.13)	No-Tox	>100	No-Tox
SP3	24.30 (23.61-25.34)	Ma-Tox	0.92 (0.001-7.73)	Hi-Tox	32.59 (30.11-34.87)	Ma-Tox	>100	No-Tox	0.14 (0.1-0.18)	No-Tox	61 (58-64)	Ma-Tox
SP4	>100	No-Tox	0.002 0.001-0.324)	Hi-Tox	>100 (-)	No-Tox	1.70 (1.50-1.84)	Mo-Tox	0.94 (0.88-1)	No-Tox	55 (39-70)	Ma-Tox
SP5	>100	No-Tox	0.61 (0.20-1.49)	Hi-Tox	>100 (-)	No-Tox	0.20 (0.12-0.32)	Hi-Tox	>100	No-Tox	>100	No-Tox
SP6	22.04 (16.40-30.96)	Ma-Tox	0.02 (0.001-0.314)	Hi-Tox	>100 (-)	No-Tox	>100	No-Tox	1.60 (1.40-1.80)	Mo-Tox	32 (30-33)	Ma-Tox
SP7	9.41 (0.01-36.14)	Mo- dTox	0.35 (0.01-2.65)	Hi-Tox	23.35 (15.38-33.43)	Ma-Tox	0.87 (0.83-0.91)	Hi-Tox	0.83(0.67-0.99)	No-Tox	>100	No-Tox
SP8	>100	No-Tox	1.38 (0.42-3.34)	Mo- dTox	>100 (-)	No-Tox	1.93 (1.36-2.42)	Mo-Tox	0.63 (0.53-0.73)	No-Tox	>100	No-Tox

EC50: Efecto del 50 % de la concentración de extractos acuosos y orgánicos. 95 % de confidencia. NoTox, No tóxico; MaTox, Marginalmente tóxico, MoTox: Moderadamente tóxico, HiTox: Altamente tóxico. Estos criterios han sido definidos por Bombardier y Bermingham (1999).

Para extractos orgánicos de muestras de sedimentos tomadas en junio de 2010, se observó moderada toxicidad en La Balsa (SP1) y Anacaro (SP8); alta toxicidad fue observada en SP2, SP3, SP4, SP5, SP6 y SP7; en SP4, sitio cercano de la zona industrial de Yumbo, se encontraron algunos contaminantes orgánicos por encima de los Benchmarks establecidos por la EPA como DDE, Dieldrin y PAHs como Fluoreno (Sarria-Villa, 2015). Para extractos orgánicos de muestras tomadas en octubre de 2010, se pudo observar alta toxicidad en SP1, SP5 y SP7; en SP2, SP4 y SP8 se observó moderada toxicidad y en SP3 y SP6 no se encontró toxicidad.

Para extractos orgánicos de muestras tomadas en mayo de 2011, los resultados fueron marginalmente tóxicos en Juanchito (SP3), Puerto Isaacs (SP4) y Mediacanoa (SP6); en La Balsa (SP1), Hormiguero (SP2), Paso de la Torre (SP5), Guayabal (SP7) y Anacaro (SP8), los resultados fueron de no toxicidad. Para extractos acuosos de muestras tomadas en junio de 2010, se encontraron resultados marginalmente tóxicos para SP2, SP3 y SP6; se encontró moderada toxicidad en SP7, sitio que presentó niveles de Cr, Cu, Mn y Ni, por encima de los límites establecidos EPA. En SP1, SP4, SP5 y SP8, los resultados fueron de no toxicidad, a pesar de presentar niveles de Cr, Cu, Mn y Ni por encima de los límites establecidos por la EPA (Sarria-Villa, 2015). Para extractos acuosos de muestras tomadas en octubre de 2010, se encontró no toxicidad para la mayoría de muestras (SP1, SP2, SP4, SP5, SP6 y SP8). Para las muestras tomadas en SP3 y SP7, los resultados fueron marginalmente tóxicos.

Para extractos acuosos de muestras tomadas en mayo de 2011, se encontró no toxicidad en SP1, SP2, SP5, SP7 y SP8; para las muestras tomadas en SP3, SP4 y SP6, los resultados fueron marginalmente tóxicos. Los extractos de las muestras tomadas en SP1, SP2, SP5, SP7 y SP8, a pesar de ser no tóxicas, presentaron concentraciones importantes de As, Ba, Cr, Cu, Mn, Ni y Zn. Lo anterior indica que otros factores como el pH, materia orgánica, etc., (Kelderman y Osman, 2007) pueden afectar la disponibilidad de los metales en la fase acuosa, lo cual influye en la respuesta de toxicidad.

Las toxicidades encontradas en extractos orgánicos coincidieron con los sitios de influencia de la zona industrial de Yumbo en SP4 y SP5 (Jurado, 2011). Se encontró que compuestos orgánicos de arsénico son tóxicos para *Vibrio Fischeri* (Fulladosa et al., 2007). Las moléculas que contienen arsénico son ampliamente usadas en aves de corral, ganado y agricultura, con el fin de convertirse en fertilizantes que contienen algunas trazas de arsénico y se usan concentraciones de As elevadas, en sitios donde se realizan actividades agrícolas como fertilizante para el arroz (Unión Europea, 2003). Se debe tener en cuenta que, la toxicidad evaluada en sedimentos al utilizar bioensayos puede verse fuertemente influenciada por factores conocidos

como “factores de confusión”. Existen múltiples factores naturales que contribuyen a la toxicidad de los sedimentos. Una muestra puede presentar diferente respuesta de toxicidad dependiendo del pH, tamaño de grano, presencia de amoníaco, nitrito, nitrato, salinidad, contenido de materia orgánica, volumen de agua de poro y relación de metales extraídos simultáneamente/sulfuros volátiles ácidos (SEM/AVS) (Lapota y Word, 2000). Entre ellos, los niveles de amoníaco muestran una significativa influencia, al crear un ambiente reductor que puede plantear un riesgo de efecto adverso para los organismos bénticos. Efectos biológicos del sulfuro en sedimentos y sobre *Vibrio fischeri* se encuentran en estudio (Delistraty y Yokel, 2007); sin embargo, es necesario realizar investigaciones sobre los efectos de este tipo de factores.

En cuanto a la presencia de plaguicidas y metales pesados en aguas del río Cauca y de acuerdo a (Fischer G.R., 1990) en publicación hecha en las Memorias del I Simposio internacional y el II Nacional, sobre Plaguicidas, Ambiente y Salud Humana. Sostiene que el profesor Aníbal Patiño en el año 1979, en un estudio sobre la población acuática del río Cauca, determinó que entre los agentes contaminantes responsables del mayor deterioro del río Cauca, se encuentran los plaguicidas residuales provenientes de los campos de cultivo, además de otros agentes tales como residuos industriales y agua residuales domésticas.

En el mismo sentido, (Barba Ho L. E., 1994); (Contraloría Departamental del Valle del Cauca, 1995) en estudio de plaguicidas en aguas del río Cauca, a muestras tomadas desde Salvajina hasta la Victoria entre 1983 a 1987. Reportó datos que sobrepasan las normas de calidad existentes para organoclorados y organofosforados.

De otro lado, es importante destacar los trabajos realizados por el Departamento de Química de la Universidad del Valle, en el tema de plaguicidas organoclorados y organofosforados analizados por cromatografía de gases, en estaciones que frecuentemente van desde la zona del Hormiguero, hasta Río Frío. (...), las investigadoras (Parra Cardona S.P., Páez M., 1994); (Parra Cardona S.P., Páez M., 1995). Realizaron un trabajo tendiente a determinar plaguicidas organoclorados, en las fuentes de captación de agua para consumo humano de la ciudad de Cali.

(...) se evaluó la contaminación por los metales Hg, Pb, Cr y Cd, en trabajos realizados por estudiantes de la Universidad del Valle (Correa, 2009) donde se analizó y cuantificó la contaminación a causa de estos elementos en el agua del Río Cauca, en el tramo que abarca al municipio de Cali. Este trabajo mostró que los metales se encontraban en el orden de ppb en la mayoría puntos de estudio. (Táquez, 2011, pp. 9-11)

Conclusiones

El bioensayo de Microtox permitió detectar efectos conjuntos producidos por la presencia de múltiples contaminantes y contaminación natural, esto es común cuando se realizan evaluaciones de riesgo ecológico en escenarios reales. Se pudo determinar la conveniencia de usar sedimentos para evaluar el impacto de microcontaminantes en ecosistemas acuáticos.

Los resultados indican la importancia de monitorear sedimentos y tomarlos como guías de calidad ambiental, además, se evidenció diferentes respuestas de toxicidad para extractos acuosos y orgánicos durante los tres muestreos, donde se obtuvo mejor respuesta en los orgánicos.

Las respuestas de toxicidad a lo largo de las estaciones fueron variadas, indicando respuestas positivas de toxicidad en estaciones como Paso de la Torre y Guayabal, sitios con importantes descargas de actividad industrial y zonas con actividades agrícolas permanentes. Es necesario asociar mediciones cuantitativas con ensayos rápidos de toxicidad para hacer el seguimiento de daños causados por contaminación de las aguas.

Agradecimientos

Se agradece a AECID (Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo) por el soporte financiero a través de los contratos D/026977/09 y D/031370/10, a Minciencias Colombia, al grupo GICAMP Universidad del Valle, grupo Producción más limpia Universidad Javeriana-Cali, al Dr. William Ocampo-Duque de la Universidad Javeriana Cali y a la Dra. Marta Schuhmacher de la Universitat Rovira i Virgili, Tarragona-España.

Referencias

- Ayyamperumal, T., Jonathan, M.P., Srinivasalu, S., Armstrong-Altrin, J.S. & Ram-Mohan, V. (2006). Assessment of acid leachable trace metals in sediment cores from River Uppanar, Cuddalore, Southeast coast of India. *Environ. Pollut*, 143(1), 34-45
- Azur Environmental. (1999). Microtox Omni™ Software for Windows 95/98/NT.
- Bombardier, M. & Bermingham, N. (1999). The SED-TOX index: Toxicity-directed management tool to assess and rank sediments based on their hazard - Concept and application. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(4), 685-698

- Borja, A., Valencia, V., Franco, J., Muxika, I., Bald, J., Belzunce, M.J. & Solaun, O. (2004). The water framework directive: water alone, or in association with sediment and biota, in determining quality standards? *Mar Pollut Bull*, 49(1-2), 8–11.
- Chapman, P.M. (2007). Determining when contamination is pollution – Weight of evidence determinations for sediments and effluents. *Environ Int*, 33(4), 492-501
- Chau, K.W. (2006). Persistent organic pollution characterization of sediments in Pearl River estuary. *Chemosphere*, 64(9), 1.545-1.549.
- Corporación Autónoma del Valle del Cauca (CVC). (2005). Reportes del proyecto de Modelación del río Cauca. Convenio CVC-Univalle.
- Delistraty, D. & Yokel, J. (2007). Chemical and ecotoxicological characterization of Columbia River sediments below the Hanford site (USA). *Ecotoxicol Environ Safe*, 66(1), 16-28.
- Evgenidou, E., Fytianos, K. & Poullos, I. (2005). Photocatalytic oxidation of dimethoate in aqueous solutions. *Journal of Photochemistry and Photobiology a Chemistry*, 175(1), 29-38.
- Fulladosa, E., Murat, J.C., Bollinger, J.C. & Villaescusa, I. (2007). Adverse effects of organic arsenical compounds towards *Vibrio fischeri* bacteria. *Sci Total Environ*, 377(2-3), 207-213
- Grant, A. & Briggs AD. (2002). Toxicity of sediments from around a North Sea oil platform: are metals or hydrocarbons responsible for ecological impacts? *Mar environ res*, 53(1), 95-116.
- Hyötyläinen, T. & Oikari, A. (1999). Assessment of toxicity hazards of dredged lake sediment contaminated by creosote. *Sci Total Environ*, 15(243/244), 97–105
- Jurado, M. (2011). *Modelo para la evaluación de la ecotoxicidad acuática mediante bioensayos con bacterias luminiscentes en el río Cauca* (tesis de maestría, Universidad del Valle).
- Kelderman, P. & Osman, A.A. (2007). Effect of redox potential on heavy metal binding forms in polluted canal sediments in Delft (The Netherlands). *Water Research*, 41(18), 4.251-4.261
- Kelderman, P. & Osman, A.A. (2007). Effect of redox potential on heavy metal binding forms in polluted canal sediments in Delft (The Netherlands). *Water Research*, 41(18), 4.251-4.261.
- Lapota, D. & Word, J. (2000). Confounding factors in sediment toxicology. <https://clu-in.org/download/contaminantfocus/sediments/testing-sediments-confound.pdf>

- Moalla, S.M., Awadallah, R.M., Rashed, M.N. & Soltan M.E. (1998). Distribution and chemical fractionation of some heavy metals in bottom sediments of lake Nasser. *Hydrobiologia*, 364, 31-40
- Moreno-Garrido, I., Lubian, L.M., Jiménez, B., Soares, V.M. & Blasco, J. (2007). Estuarine sediment toxicity tests on diatoms: Sensitivity comparison for three species. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 71(1), 278-286.
- Ocampo-Duque, W., Sierra J, Ferre-Huguet, N., Schuhmacher, M. & Domingo, J.L. (2008). Estimating the environmental impact of micro-pollutants in the low Ebro River (Spain): An approach based on screening toxicity with *Vibrio fischeri*. *Chemosphere* 72(5), 715-721.
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz, M. y González, E. (2016). Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Revista ingeniería, investigación y desarrollo*, 16(2), 66-77.
- Sarria-Villa, R. (2015). *Desarrollo de un modelo para la gestión de la calidad del agua del río Cauca en su paso por el departamento del Valle basado en sistemas Inteligentes* (tesis de doctorado, Universidad del Valle). Repositorio Digital Univalle. <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/handle/10893/10460>
- Táquez, M. (2011). *Evaluación de la mutagenicidad en aguas del río Cauca en la ciudad de Cali utilizando el test de Ames* (tesis de pregrado, Universidad del Valle). Repositorio Digital Univalle. <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/handle/10893/3923>
- US EPA. (2007). Method 3546. Microwave extraction. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3546.pdf>