

ECOTOXICIDAD EN AGUAS SUPERFICIALES Y SEDIMENTOS**

Castillo *Gabriela ¹, Dutka Bernard ², McInnis Rodney ²

¹Depto. Ing. Civil, U.de Chile. Casilla 228-3 Santiago, Chile.

²National Water Research Institute, Burlington, Ont., Canada.

RESUMEN

El uso de pesticidas en agricultura es una práctica universal para mejorar la productividad de los cultivos, que eventualmente puede trascender en la dispersión de tóxicos a través del agua. Este trabajo es parte de un proyecto de investigación financiado por IDRC Canadá, relacionado con calidad de aguas en zonas rurales de Chile. En este caso, se describe hallazgos de actividad ecotóxica en aguas y sedimentos de la cuenca del río Rapel, VI Región de Chile, mediante una batería de 9 diferentes tipos de bioensayos. Los resultados indicaron que en los cinco puntos de muestreo estudiados se demostró actividad genotóxica inducida y presencia de pesticidas, tanto en el agua como en los sedimentos; además, en tres lugares se detectó actividad genotóxica / mutágena directa. En general, los efectos tóxicos detectados en las aguas de la cuenca presentaron estrecha relación con el uso de pesticidas en la agricultura y la actividad minera de la zona. Detalles del estudio, y la discusión e implicancia de sus resultados se presentan a continuación.

** Proyecto IDRC 92-1058-05

Palabras clave: bioensayos, ecotoxicidad, mutagenicidad, pesticidas

INTRODUCCION

En la actualidad, la agro-industria se ve enfrentada a una gran competitividad, para lo cual le es imprescindible mantener una adecuada y autosustentable productividad. De ahí que el uso de pesticidas sea una práctica universal para lograr dicha productividad. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos (herbicidas, insecticidas, fungicidas, bactericidas, otros) está trascendiendo en la contaminación de los suelos y aguas. Últimamente en Chile, existe preocupación sobre la falta de control en el uso de los pesticidas, el que sido alertado más de una vez por la prensa, el área médica y grupos ambientalistas. Como parte de una investigación sobre calidad de aguas, se aprovechó para iniciar estudios ecotoxicológicos en algunas aguas naturales del centro y sur de Chile. En este trabajo se presentan los resultados de una batería de bioensayos practicados en aguas superficiales y sus sedimentos en la VI Región de Chile, cuyas principales actividades corresponden a fruticultura y minería.

MATERIAL Y METODOS

Lugares de muestreo

Las muestras de agua y sus sedimentos fueron recolectadas desde cinco puntos de la cuenca del Rapel, cercanos a la ciudad de Rancagua en la VI Región. La actividad económica de la región se basa principalmente en la agricultura y la minería. Los principales cultivos de la zona son horticultura y fruticultura. Las muestras sometidas a bioensayos correspondieron a los siguientes lugares de muestreo:

Muestra 24 : Río Cachapoal, en un punto cercano a la ciudad de Rancagua. Muestra 25 : Estero La Cadena, en un punto cercano a Graneros, donde las aguas son utilizadas en riego.

Muestra 26: Estero Tipaume, en un punto localizado en el camino a Rosario; estas aguas son utilizadas principalmente en riego.

Muestra 27: Estero la Cadena en su inicio, Punta de Cortés. En este lugar el estero se une a las aguas del Río Cachapoal donde el río recibe las descargas de aguas servidas de Rancagua, Machalí y Graneros.
Muestra 28: Río Cachapoal en el punto cercano a la desembocadura de los ríos Coya y Pangal.

Bioensayos: Las muestras de agua y sus sedimentos se analizaron por los 9 bioensayos que se detallan:

SOS-Chromotest. Este ensayo se basa en una reacción colorimétrica producida por actividad enzimática microbiana después de incubar una cepa de *E. coli* (K12-PQ37) con la muestra; se incuba la bacteria junto a las muestras y controles. Después de 2 h. de incubación a 35°C se mide la producción de B-galactosidasa (respuesta SOS) mediante lectura de la densidad óptica a 615nm. A mayor producción de B-galactosidasa, mayor es la respuesta SOS inducida (IF), y por lo tanto mayor la concentración de genotóxicos en la muestra.

Este ensayo se puede realizar con o sin S-9, (homogenizado hepático) que simula actividad enzimática inducida (Xu et al. 1987). Si el IF es ≥ 1.3 se considera muestra positiva por indicar presencia de compuestos mutágenos directos (sin agregado de S9) o promutágenos (con agregado de S9).

Sediment-Chromotest Este ensayo determina directamente la presencia y concentración de tóxicos en sedimentos, sólidos suspendidos, suelos y residuos sólidos. Se incuban diluciones del sedimento con un cultivo rehidratado de una mutante de *E. coli*; luego se coloca 20 μ L de cada muestra y el control en membranas de microfibras de vidrio conteniendo un sustrato cromógeno azul. Los resultados se obtienen después de 30 min de incubación a 35°C. La aparición de color azul indica ausencia de toxicidad; la ausencia de color corresponde a presencia de toxicidad (Kwan 1991, 1993).

Ensayo de Transporte Reverso de Electrones (SMP-RET). Este procedimiento usa partículas submitocondriales de corazón animal (SMP) para detectar tóxicos en muestras líquidas. Las SMP parte de la membrana interna de las mitocondrias conocidas como "partículas transportadoras de electrones" (ETP). Este bioensayo está basado en la capacidad de las ETP de usar la energía suministrada por el ATP para dirigir los electrones suministrados por el succinato, en una dirección termodinámicamente desfavorable, a través del complejo mitocondrial respiratorio II al complejo I, donde reduce el NAD a NADH. Se ha demostrado que los metales pesados y diversos compuestos orgánicos de retardan o inhiben la respiración celular (Knobeloch et al. 1990a).

Para el ensayo se agrega ETP reconstituidas a una cubeta con reactivos y muestra. Se añade ATP para iniciar el transporte de los electrones, midiéndose la reacción con un espectrofotómetro. La toxicidad se determina comparando el transporte de los electrones entre las cubetas con las muestras y el control (Blondin et al. 1987). Una inhibición entre 30 y 50% respecto al control indica presuntiva presencia de tóxicos; > 50% confirma la presencia de tóxicos.

Ensayo de Transporte Avanzado de Electrones (FET). Este procedimiento usa mismas partículas del ensayo anterior (SMP-ETP), para detectar tóxicos en muestras líquidas. El ensayo FET se basa en el movimiento de los electrones desde el NADH a través de los sistemas enzimáticos respiratorios I, III y IV. Esta es la dirección normal del flujo de los electrones a través de estas enzimas durante la respiración celular. La conversión de NADH a NAD es monitoreada espectrofotométricamente a 340nm. El ensayo se realiza agregando ETP reconstituidas a una cubeta con reactivos y muestra. El NADH se agrega como un dador de electrones, midiéndose la velocidad de oxidación se mide con espectrofotómetro. La toxicidad de la muestra se determina comparando la velocidad de desaparición del NADH en la muestra y en los controles (Knobeloch et al. 1990). En este estudio los resultados del FET se expresan como % de inhibición de la oxidación del NADH comparado con un control atóxico. Reacciones de inhibición entre 30 - 50% sugieren la presencia de tóxicos; inhibición > de 50% confirma actividad tóxica.

Ensayo de *P. anagrellus redivivus*. Este nemátodo produce en su ciclo de vida los juveniles J2 que se usan para el ensayo. Para la prueba se toman 100 animales J2; en grupos de 10 se enfrentan a diferentes diluciones de la muestra; durante 96 h. se controla las siguientes reacciones: a) Crecimiento en tamaño, b) pérdida del crecimiento, c) maduración y d) muerte. El crecimiento de J2 a J3, o de J3 a J4, requiere mínima actividad genética, mientras que el paso de J4 a adulto requiere gran actividad genética. Los mutágenos inhiben la maduración de los animales J4 al estado adulto, inhibición que se usa como indicador de potencial actividad mutagénica de la muestra. El ensayo aplicado en este estudio mide tres actividades 1) la capacidad de sobrevivir en la muestra durante 96 h. a $21 \pm 1^\circ\text{C}$, 2) la capacidad de los animales J2 de alcanzar el estado J4

y 3) la capacidad de los animales J4 de alcanzar el estado adulto. Los resultados se comparan con controles negativos (Samailoff 1990).

Inmunoensayos para pesticidas específicos. Los inmunoensayos constituyen una técnica muy sensible y específica que se basa en la unión de anticuerpos (reactivo de detección) y antígenos (contaminante a detectar). Para realizar el ensayo se agrega la muestra preparada o su extracto a una solución conteniendo un trazador enzimático. Las mezclas, muestra / trazador y control de referencia / trazador, se colocan en los pocillos de una microplaca desechable impregnada con los anticuerpos. El movimiento de la muestra y las mezclas de referencia a través de la superficie de los anticuerpos atrapados en la superficie de la microplaca permite que los pesticidas presentes en la muestra y la enzima trazadora compitan en la unión con los anticuerpos específicos. El ensayo es finalizado con el agregado de una solución de enjuague, una solución de desarrollo de color y una solución final, a la placa detectora. La preparación de la muestra y el inmunoensayo demora 30 min.; los resultados se expresan en ppb. En este estudio se ensayó kits separados para los pesticidas: benomyl, atrazina y metolachlor (Agri-Diagnostic, 1991).

Microtox. Este ensayo corresponde a una técnica fotométrica que usa la respuesta a la exposición de tóxicos por parte de una bacteria marina bioluminiscente *Vibrio fischeri*. En la prueba la bacteria rehidratada es incubada durante 15 a 30 min. a 15°C junto a la muestra y sus diluciones. Luego se mide en un lector computarizado Microtox 500M la pérdida de producción de luz por la bacteria. La toxicidad de la muestra se expresa como la concentración (CE) en %, que inhibe el 50% de producción de luz dentro de cierto tiempo de exposición (Dutka 1989).

Test de Toxicidad aguda con *Daphnia magna*. El microcrustáceo-cladóceros *Daphnia magna* es universalmente usado como ensayo de corto tiempo para determinar toxicidad aguda. Se enfrentan 10 neonatos de 24 h. con la muestra y con c/u de sus diluciones (generalmente 5 diluciones) durante 24 h. a 21± 1°C y luego se registra la pérdida de movilidad de los animales. El resultado se reporta como CI50-24h (%), que equivale a la concentración de muestra que inhibe el movimiento del 50% de los animales en prueba (ISO 6341, 1982).

Monitor Biocida ECHA. Este es un ensayo simple y económico (disponible en kit), desarrollado para detectar la presencia de tóxicos en muestras de agua y sedimentos. Se basa en el uso de una pequeña almohadilla impregnada con una bacteria y un sistema de cultivo indicador para detectar la respiración bacteriana. Para analizar muestras sólidas se aprisiona la almohadilla (con la mano), con aprox. 50 g de sedimento durante 1 min; luego se limpia levemente la almohadilla, se introduce en su envase plástico y se incuba a 30-37° por 18-24 h. Si la almohadilla presenta color rosado significa que la bacteria se desarrolla y no existen tóxicos interferentes en la muestra; en cambio si la almohadilla permanece incolora indica presencia de tóxicos. Mientras mayor grado de toxicidad de la muestra, mayor será el grado de inhibición de crecimiento de la bacteria y por lo tanto menor grado de desarrollo de color. Un resultado ND significa ausencia de toxicidad (color rosado); resultados +1, +2, +3, indican incremento de la toxicidad (Dutka & Gorrie, 1989).

Recolección de Muestras y Procesamiento

Las muestras para practicar los bioensayos fueron recolectadas en botellas plásticas de 500 mL y 1 L. Para todos los bioensayos, excepto el ensayo con *Daphnia*, las muestras fueron concentradas 10 veces (10X), usando procedimientos descritos por Dutka et al. 1993.

Las muestras de sedimentos (2-3 cm de profundidad) fueron recolectadas en frascos de vidrio de aprox. 200 ml. El agua del exudado de las muestras, obtenido según Dutka et al. 1991, fue sometida a las pruebas de bioensayo.

Algunos ensayos fueron realizados con y sin adición de S9, homogenizado de hígado de rata, conocido como Aroclor. Este reactivo promueve la actividad tóxica de compuestos mutagénicos o carcinogénicos al ser metabolizados *in vivo* por su acción sobre enzimas como la mono-oxigenasa citocromo P-450. Los organismos vivos pueden transformar muchos compuestos químicos no perjudiciales (promutágenos) en tóxicos, por unirse con las proteínas u otros constituyentes celulares. El uso de la fracción microsomal de homogenizado de hígado de rata (S9) permite la detección indirecta de compuestos promutágenos presentes en la muestra. (Dutka, 1989).

RESULTADOS

En la Tabla 1. se presentan los resultados de biotoxicidad encontrada en las cinco muestras y sus sedimentos recolectadas en la región del estudio. De ellos se desprende que las actividades económicas de la zona estarían trascendiendo en la toxicidad encontrada. Todas las estaciones de muestreo, 24 a la 28, se ven afectadas por los pesticidas aplicados en la agricultura; además, las estaciones 24, 27 y 28 estarían siendo impactadas por la minería.

Todas las aguas mostraron significativa presencia de compuestos promutágenos por el ensayo del SOS-Chromotest S9+, los mayores factores de inducción (IF, 2.8 y 2.3) se detectaron en las muestras del río Cachapoal en la descarga de los ríos Coya y Pangal (m.28) y estero La Cadena en Graneros, (m.25), respectivamente.

Además, las dos muestras del estero La Cadena (m.25), en Graneros y (m.27) en Punta de Cortés indicaron actividad mutagénica directa (sin activador, S9-).

La respuesta del ensayo de mitocondrias (SMP-RET) sugiere la presencia de tóxicos en las aguas de los esteros La Cadena (m.25) y Tipaume (m.26). De los resultados del SMP-RET se deduce que estas muestras contienen contaminantes perjudiciales que podrían afectar la respiración de peces, plantas y/o animales (Knobeloch, 1990).

El % de maduración de *Panagrellus* del test de nemátodos indica que las aguas analizadas, a excepción de la muestra 26, contienen suficiente cantidad de compuestos genotóxicos como para inhibir su desarrollo. Los mayores efectos tóxicos se detectaron en las aguas del inicio del estero La Cadena (m.27) y en la desembocadura de los ríos Coya y Pangal al río Cachapoal (m.28); en estas aguas ninguno de los animales en prueba alcanzó su desarrollo hasta el estado adulto.

En cuanto al % de supervivencia, es decir toxicidad aguda que impide el paso desde el estado J2 a los estados larvales intermedios J3-J4, la actividad tóxica encontrada en las aguas fue leve, oscilando entre un 89 y 100%.

La ocurrencia de pesticidas en las aguas y su concentración (Tabla 1), demuestran el uso generalizado de estos químicos en la zona. Todas las muestras contenían benomyl y atrazina; además, en las aguas del estero La Cadena en Graneros (m. 25), se detectó la presencia de metolachlor.

Los antecedentes aportados por esta batería de bioensayos son bastante concordantes entre sí. La actividad mutágena directa e indirecta demostrada por el ensayo del SOS-Chromotest, el efecto genotóxico sobre la maduración de Nemátodos y la interferencia en el transporte de las mitocondrias en la cadena respiratoria del SMP-RET, coinciden con la detección de los pesticidas benomyl y atrazina. De ahí que se piense que los efectos tóxicos observados en este estudio, estarían asociados al uso de estos u otros tipos de pesticidas.

Los resultados de los tests de genotóxicos y las concentraciones de pesticidas encontradas reafirman fuertemente la importancia de la utilización del ensayo de inhibición de la actividad respiratoria del SMP-RET. En la Tabla 1., es posible observar que, pese a que la muestra 26 presenta un mayor % de inhibición de la actividad mitocondrial que la muestra 25, presenta menor concentración de pesticidas y actividad genotóxica. La interpretación sería que, con toda probabilidad, en la muestra 26 además de los tóxicos que impactan a la muestra 25, existen otros químicos no evaluados por los ensayos anteriores, que si estarían siendo detectados por el ensayo SMP-RET.

Respecto a la biotoxicidad encontrada en los exudados de los sedimentos (aguas de poro), esta fue en general inferior a la de las aguas de superficie. Sin embargo los resultados indicaron que la estación 25 fue la más contaminada y la 24 la menos contaminada (Tabla 1).

Se observa que el agua de poro de la muestra 25, demostró resultados de bioensayos muy similares a las del agua superficial, pero en mayor proporción, tanto de tóxicos como de genotóxicos. El SOS-Chromotest mostró similar actividad mutágena directa y promutágena (IF 1.9), los resultados de pesticidas fueron iguales, con la

excepción de la atrazina, cuya concentración en el sedimento fue casi el doble. A su vez, al igual que el agua superficial, el sedimento contenía metolachlor.

Curiosamente, el agua de poro de la estación 27, que evidenció una mayor actividad por tóxicos /genotóxicos que las aguas de superficie, y cuya concentración de atrazina fue la más alta de todos los puntos muestreados en la zona, presentó un test de maduración de nemátodos negativo. Esto podría deberse que la atrazina no gatillaría respuesta al test por encontrarse ligada a los sedimentos y por lo tanto no biodisponible para estos animales.

En síntesis, las aguas y exudados de los sedimentos de las agua de la cuenca del río Rapel mostraron una fuerte y generalizada presencia de compuestos genotóxicos directos e inducidos, determinados por el ensayo SOS-Chromotest y el test de maduración de nemátodos. Los pesticidas determinados por inmunoensayos se encontraron en todas las muestras, con un máximo de > 1.6 ppb. Se asume que estos pesticidas podrían ser en parte los principales responsables de las respuestas genotóxicas detectadas.

La respuesta positiva encontrada por el ensayo SMP-RET refuerza la asociación entre la toxicidad encontrada en todas las muestras y la presencia de pesticidas y además, la acción inhibitoria producida por los metales pesados que probablemente , por su origen, arrastrarían las aguas de las estaciones 24,27 y 28.

Estos hallazgos tienen especial importancia respecto a un posible efecto tóxico en el hombre, ya que se ha demostrado correlaciones estadísticamente significativas ($r^2=0.84$) entre la respuesta del ensayo SMP-RET y la toxicidad obtenida en diversos cultivos celulares, incluidas células humanas, con niveles de tóxicos en el suero de casos clínicos en humanos (Knobeloch et al. 1990a).

Tal como se observa en la Tabla 2, los ensayos de toxicidad aguda mediante *Daphnia magna*, practicados durante 24 h. en las aguas superficiales naturales no concentradas, fueron negativos. Existe la posibilidad que si el ensayo se hubiera continuado por otras 24 h. algunas muestras podrían haber mostrado una cierta actividad tóxica. Estos resultados coinciden en parte con la baja toxicidad encontrada en las aguas concentradas (10X), por el ensayo de supervivencia de nemátodos dentro de 96 h. (Tabla 1).

Igualmente, todas las muestras de agua concentradas 10X y las aguas de poro de los sedimentos fueron negativas por el ensayo Microtox y el ensayo de partículas submitocondriales SMP-FET. Tabla 2.

De la comparación de resultados entre las Tablas 1 y 2 se reafirma la necesidad de aplicar batería de ensayos, cuando se realizan estudios ecotoxicológicos. Es definitivo que la aplicación de un sólo tipo de bioensayo, sea simple o sofisticado, es insuficiente para diagnosticar, monitorear o predecir la potencial actividad ecotóxica de sustancias químicas en diversos ambientes (Dutka, 1989, Blaise 1991).

En la Tabla 3., se presentan los resultados de ecotoxicidad obtenidos en las muestras de sedimentos por los ensayos del ECHA test y Sediment-Chromotest. Se observa que en todas las muestras, excepto en la muestra 27, se detectó actividad tóxica y por ende, la presencia de tóxicos. Sin embargo, estos hallazgos no fueron reafirmados por el Sediment-Chromotest, donde todas las muestras resultaron negativas.

Una explicación a este resultado sería la diferencia en el tiempo en la realización de ambos ensayos y la sospecha de presencia de compuestos volátiles o altamente biodegradables en estos sedimentos.

El ECHA test fue desarrollado *in situ*, en el momento de recolección de la muestra, mientras que el Sediment-Chromotest fue realizado en Canadá, 10 días después. A su vez las repeticiones posteriores del ECHA test indicaron una paulatina disminución de la actividad tóxica inicial, detectada *in situ*.

Al igual que para el caso de las aguas, los resultados de los bioensayos directos aplicados a los sedimentos reafirman la necesidad de utilizar batería de tests, ya que aún con estos ensayos directos cada bioensayo demuestra diferentes patrones de sensibilidad a los tóxicos presentes en los sedimentos. En este estudio la presencia de tóxicos en los sedimentos aparece fácilmente demostrada por los resultados de los bioensayos practicados a los exudados.

CONCLUSIONES

Los antecedentes obtenidos en este estudio indican que las aguas superficiales e intersticiales de sus sedimentos, provenientes de algunos sectores de la cuenca del río Rapel, aledañas a la ciudad de Rancagua, transportan sustancias tóxicas que se relacionan con las actividades económicas de la zona.

Todas las muestras de agua y sus sedimentos, recolectadas desde 5 diferentes puntos de muestreo, sometidas a una batería de 9 diferentes bioensayos, demostraron efecto ecotóxico, a lo menos por un tipo de prueba.

En dichas aguas y exudados de sus sedimentos se detectó una pronunciada y generalizada actividad de compuestos genotóxicos y promutágenos, que coincidió con la presencia de pesticidas organoclorados recalcitrantes del tipo atrazina y benomyl.

Se asume que la presencia de estos pesticidas, tanto en el agua como en los sedimentos, sería la principal responsable de la actividad genotóxica detectada.

Además, los efectos inhibitorios a la respiración celular detectados en las aguas indica daño potencial para las actividades vitales de los peces, plantas y animales.

Se demuestra que la utilización de un sólo tipo de bioensayo no es suficiente para detectar la dispersión de sustancias ecotóxicas en el ambiente y se reafirma la tendencia de realizar baterías de ensayos.

Los ensayos menos sensibles en este estudio fueron, en orden decreciente: el test de toxicidad aguda con *Daphnia magna*, el test de mitocondrias de avance de electrones (FET), los ensayos Microtox en fase líquida y Microtox en fase sólida y el inmunoensayo para metolachlor.

Es probable que la falta de respuesta de los ensayos se haya debido a la ausencia, o baja concentración y/o biodisponibilidad de los tóxicos que generalmente responden a estos tests, en las muestras analizadas.

La alta frecuencia de respuesta genotóxica en este pequeño número de muestras, es única en los experimentados laboratorios de ecotoxicología del NWRI, Canadá, por lo que los investigadores del Centro recomiendan profundizar estudios en la zona estudiada en Chile, a fin de clarificar el origen de los hallazgos ecotoxicológicos y sus posibles consecuencias.

REFERENCIAS

- Agri-Diagnostics. (1991). Pesticide analysis. Laboratory immunoassay kit. Agri-Diagnostics Ass., Mooretown NJ. USA.
- Blaise C. (1991). Microbiotests in aquatic ecotoxicology: characteristics, utility and prospects. *Env. Tox. & Wat. Qual.* **6(2)**:145-155.
- Blondin G.A., Knobeloch L.M., Read H.W. and Harkin J.M. (1987). Mammalian mitochondria as in vitro monitors of water quality. *Bull. Environ. Contam. Toxi.* **38**:467-474.
- Dutka B.J., (1989). Methods for microbiological and toxicological analysis of waters, wastewaters, and sediments. Ed. **Rivers Research Branch, NWRI, CCIW**, Burlington, Ont. Canada.
- Dutka B.J. and Gorrie, J.F. (1989). Assessment of toxicant activity in sediments by the ECHA Biocide Monitor. *Envir. Pollut.* **57**:1-7.
- Dutka B.J., Kwan K.K., Rao S.S., Jurkovic J., McInnis R., McInnis G., Brownlee B. and Liu D.L. (1991). Ecotoxicological study of northern Canadian waters impacted by tar sands extraction processes. *Zeitschrift für angewandte Zoologie* **78**:295-322.
- Dutka B.J., Liu D.L., Jurkovic A. and McInnis R. (1993). A comparison of four simple water extraction-concentration procedures to be used with the battery of bioassay tests approach. *Environ. Tox. Water Qual.* **8**:397-407.
- Kwan K.K. (1991). Direct sediment toxicity testing procedure (DSTTP). N.W.R.I. *Contr. N° 91-90, NWRI, CCIW, Burlington, Ont. Canada.*
- Kwan, K.K. (1993). Direct solid phase toxicity testing procedure. *E.T.W.Q.* **8**:345-350.
- International Standardization Organization. (1982). Water quality determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera-Crustacea) **ISO 6341**.
- Knobeloch L., Blondin G., Read H.W. and Harkin J.M. (1990). Assessment of chemical toxicity using mammalian mitochondrial electron transport particles. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **22**:828-835.
- Knobeloch L., Blondin G. & Harkin J. (1990a). Use of submitochondrial particles for prediction of chemical toxicity in man. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **44**:661-668.
- Samailoff M. (1990). The nematodes toxicity assay using *Panagrellus redivivus*. *Tox. Assess.* **5**:309-318.
- Xu H., Dutka B.J. and Kwan K.K. (1987). Genotoxicity studies on sediments using a modified SOS-Chromotest. *Tox. Assess.* **2**:79-78.

Tabla 1. Resultados de bioensayos en aguas y sedimentos de la cuenca del río Rapel

Muestra #	Tipo de Muestra	SOS-Chromotest Factor inducción		SMP-RET(%) Inhibición	NEMATODOS %		INMUNOENSAYOS (ppb)		
		S9-	S9+		Supervivencia	Maduración	Benomyl	Atrazina	Metolachlor
24	Agua 10X	1.1	1.9	16	89	72	0.29	0.10	<0.10
	Agua de poro	1.0	1.1	nd*	73	74	0.15	<0.10	<0.10
25	Agua 10X	1.6	2.3	32	98	55	0.86	0.66	0.55
	Agua de poro	1.9	1.9	nd*	94	68	0.58	1.26	0.63
26	Agua 10X	1.1	1.9	41	100	100	0.43	0.51	<0.10
	Agua de poro	0.9	1.1	nd*	92	68	0.14	0.18	<0.10
27	Agua 10X	1.3	1.7	24	100	0	0.70	0.74	<0.10
	Agua de poro	1.8	2.9	nd*	94	100	0.70	>1.60	<0.10
28	Agua 10X	1.0	2.8	18	96	0	0.58	0.16	<0.10
	Agua de poro	0.9	1.4	nd*	96	82	0.25	<0.10	<0.10

ND*= no determinado Agua 10X= muestra concentrada 10 veces

Agua de poro= exudado del sedimento

Tabla 2. Resultados de bioensayos en aguas y sedimentos de la cuenca del río Rapel

Muestra #	Tipo de Muestra	Daphnia magna Cl ₅₀₋₂₄ (%)	Microtox CE ₅₀ (%)	SMP-FET % Inhibicion
24	Agua directa	>90	nd	nd
	Agua 10X	nd	>90	<10
	Agua de poro	nd	>90	<10
25	Agua directa	>90	nd	nd
	Agua 10X	nd	>90	<10
	Agua de poro	nd	>90	<10
26	Agua directa	>90	nd	nd
	Agua 10X	nd	>90	<10
	Agua de poro	nd	>90	<10
27	Agua directa	>90	nd	nd
	Agua 10X	nd	>90	<10
	Agua de poro	nd	>90	<10
28	Agua directa	>90	nd	nd
	Agua 10X	nd	<90	<10
	Agua de poro	nd	>90	<10

ND*= no determinado
del sedimento

Agua 10X= muestra concentrada 10 veces

Agua de poro= exudado

Tabla 3. Respuesta de bioensayos directos en sedimentos de la cuenca del río Rapel

Muestra #	Monitor ECHA	Sediment-Chromotest EC100 (%)
24	1 +	> 50
25	3 +	> 50
26	3 +	> 50
27	ND	> 50
28	1 +	> 50

ND = no detectado