



Universidad de Concepción



FACULTAD DE CIENCIAS
AMBIENTALES

EVALUACION DE LA TOXICIDAD CRÓNICA DEL SECTOR MEDIO DEL RÍO ITATA EN ORGANISMOS BIOINDICADORES *DAPHNIA* *MAGNA* MEDIANTE TÉCNICAS DE FRACCIONAMIENTO

Habitación presentada para optar al título de
Ingeniero Ambiental

CAMILA MONSERRAT JARA MIRANDA

Profesor guía: Dr. Roberto Urrutia Pérez

Concepcion, Chile

2021



“EVALUACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA TOXICIDAD CRÓNICA EN LAS AGUAS DEL RÍO ITATA.”

PROFESOR GUÍA: DR. ROBERTO URRUTIA PÉREZ

PROFESOR CO- GUÍA: DR. OSCAR PARRA BARRIENTOS

PROFESOR COMISIÓN: DR. MAURICIO AGUAYO ARIAS



CONCEPTO: APROBADO CON DISTINCIÓN MÁXIMA

Conceptos que se indica en el Título

- ✓ Aprobado por Unanimidad : (En Escala de 4,0 a 4,9)
- ✓ Aprobado con Distinción (En Escala de 5,0 a 5,6)
- ✓ Aprobado con Distinción Máxima (En Escala de 5,7 a 7,0)

Concepción, enero 2022

INDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS.....	ii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
RESUMEN	v
1. MARCO TEÓRICO	1
2. HIPÓTESIS.....	17
3. OBJETIVOS	17
3.1 OBJETIVO GENERAL	17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
4. METODOLOGÍA	17
4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS ACTIVIDADES EN TORNO A LA CUENCA	17
4.2 ÁREA DE ESTUDIO	18
4.3 MUESTREO.....	20
4.4 TEST DE TOXICIDAD CRÓNICA.....	20
4.5 FRACCIONAMIENTOS TIE.....	23
4.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	27
5. RESULTADOS.....	28
5.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS ACTIVIDADES PRODUCTIVAS	28
5.2 BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CRÓNICA DE LAS MUESTRAS SIN TRATAMIENTO	35

5.3 BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CRÓNICA EN LA MUESTRA TRAS SER FILTRADA	38
5.4 BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CRÓNICA CON MUESTRA TRATADA CON CARBÓN ACTIVO 40	
6. DISCUSIÓN.....	42
7. CONCLUSIONES.....	49
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1: Coordenadas de Estaciones de Monitoreo.....	19
Tabla N°2: Componentes y parámetros del agua reconstituida.....	22
Tabla N°3: Condiciones de ensayo y criterios de aceptabilidad de los bioensayos de toxicidad crónica con <i>Daphnia magna</i>	22
Tabla N°4: Tabla porcentaje usos de suelo por estación de monitoreo, cuenca río Itata.....	33
Tabla N°5: Estadístico descriptivo de resultados bioensayo crónico estación IT8 sin tratamiento.....	36
Tabla N°6: Estadístico descriptivo de resultados bioensayo crónico estación IT8 tras la filtración.....	38
Tabla N°7: Estadístico descriptivo de resultados bioensayo crónico estación IT8 tras el tratamiento de carbón activo.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Ubicación de las estaciones de muestreo en la cuenca del río Itata..	18
Figura N°2: Estación IT-8.....	19
Figura N°3: columnas de carbón activo.....	24
Figura N°4: Sistema de filtración por columnas de carbón activo en serie.....	25
Figura N°5: Filtración por membranas de celulosa.....	26
Figura N°6: Región de Ñuble, división administrativa.....	29
Figura N°7: Porcentajes de uso de suelos, región de Ñuble.....	30
Figura N°8: Carta usos de suelo en la cuenca del río Itata.....	32
Figura N°9: Esquema general de territorios considerados en la Región de Ñuble...	34
Figura N°10: Resultados del bioensayo crónico estación IT8 sin tratamiento.....	37
Figura N°11: Resultados del bioensayo crónico estación IT8 tras filtrar.	39
Figura N°12: Resultados del bioensayo crónico estación IT8 tras el tratamiento de carbon activo.....	41
Figura N°13: distribución de uso de suelos, comuna de Ranquil.....	44



AGRADECIMIENTOS:

Al CHRIAM, por permitir formar parte del proyecto ANID/FONDAP/15130015 en condición de becaria.

A mi profesor guía Dr. Roberto Urrutia por permitir que utilizara las instalaciones del laboratorio de bioensayos para el desarrollo de este estudio, por su excelente disposición a la hora de ayudarme y resolver dudas, su paciencia y simpatía.

A Paula, Valentina, Rene, Ángelo y Gester, por brindarme sus conocimientos, experiencia, ayuda y gratos momentos en el laboratorio.

A mi familia por su infinito apoyo y constante motivación para superarme cada día.

A mis amigos que considero familia y me brindan su apoyo incondicional para avanzar.



RESUMEN

La alteración de la calidad de los recursos hídricos se ha convertido en una de las principales problemáticas de las últimas décadas, se debe en gran medida a las labores productivas desempeñadas por el hombre a escala global. Destacando el desarrollo de las actividades agrícolas a partir del siglo XIX, impulsada en gran medida con el uso de plaguicidas, ya que eliminan organismos que interfieren en la producción de alimentos y recursos, sin embargo, están asociados a una serie de impactos a nivel ecosistémico, debido a los efectos nocivos en los organismos vivos y persistencia en el ambiente. La región de Ñuble se destaca por su marcada identidad agrícola y sus altos porcentajes de población rural, dentro de esta zona se localiza la cuenca del río Itata, este complejo sistema hídrico recibe aportes de múltiples ríos y su cauce principal abarca toda la región, originándose en la cordillera y desembocando en la costa. De acuerdo con estudios y monitoreos llevados a cabo en distintos puntos de la región, se ha registrado la presencia de plaguicidas en altas concentraciones, en muestras de agua superficial y sedimento del río Ñuble y Chillan. Además, se ha detectado toxicidad crónica en el bioindicador *Daphnia magna*, en muestras de agua superficial provenientes del sector medio del río Itata. El objetivo de este estudio fue evaluar los compuestos causantes de la toxicidad crónica registrada e identificar sus fuentes, mediante la metodología de fraccionamientos TIE, esto nos permite descartar o confirmar los compuestos responsables de la toxicidad. Los fraccionamientos aplicados fueron: filtración con membranas de nitrato de celulosa y filtración con carbón activo, con el fin de confirmarlos sólidos suspendidos y los compuestos orgánicos apolares respectivamente, como los responsables de la toxicidad. Los bioensayos de toxicidad crónica permiten evaluar y cuantificar los efectos nocivos de la muestra, exponiendo a un grupo de organismos bioindicadores a distintas diluciones de muestra, para este estudio se utilizó como bioindicador a la *Daphnia magna*. El objetivo es registrar la reproducción de los individuos y analizar estos datos en un software estadístico. Tras el análisis se determinan los valores de LOAEC y NOAEC para las muestras sin tratar, las muestras filtradas con membranas de celulosa y las

muestras filtradas con carbón activo, estos valores fueron comparados y se determina que el tratamiento con carbón activo logro reducir la toxicidad casi en su totalidad. Esto nos indica que los compuestos orgánicos apolares son los responsables de la toxicidad crónica, los cuales se relacionan con la producción agrícola desarrollada en la zona, ya que estas prácticas utilizan grandes cantidades de plaguicidas que son transportados entre los compartimientos ambientales.



1. MARCO TEÓRICO

1.1 Problemática de los recursos hídricos

El agua cumple tres roles esenciales para la sostenibilidad del desarrollo mundial: asegurar la salud humana, desarrollo económico y dar sustento a los ecosistemas. Sin embargo, en los últimos 50 años se ha convertido en un recurso escaso. De acuerdo con la American Water Works Association (AWWA), de la superficie total de la Tierra un 71% está ocupado por cuerpos de agua; pero la gran mayoría de los seres vivos, incluyendo a los seres humanos, requieren de aguas con baja carga de sales, que corresponden al 3% del total y de este 3%, sólo un sexto (0,5% del total) es accesible para nosotros. Las restantes cinco partes corresponden a los casquetes polares y glaciares. En cuanto al consumo humano, la disponibilidad se ve reducida, ya que solo el 0,01% del agua dulce presenta las características adecuadas para este fin, se trata de aquella que se encuentra en lagos, ríos y otros acuíferos (Gonzalez, 2007). De acuerdo con (Auge, 2007) a finales del siglo XX, la población mundial creció a más de 6.000 millones y el desarrollo industrial se masificó, generando una alta carga de sustancias contaminantes que, hasta la actualidad, influyen negativamente en la calidad del agua, suelo, aire y biota y que en consecuencia degradan la calidad de vida de la población.

El agua contaminada es aquella cuya composición o estado natural se ve modificado a tal punto que pierda sus condiciones aptas para los usos a los cuales se les destinó, presentando alteraciones físicas (temperatura, color, densidad, suspensiones, radioactividad, etc.), químicas (sustancias disueltas, composición, etc.) o biológicas, de tal como que no pueda cumplir con sus funciones ecológicas (C.E.E. de las Naciones Unidas, 1961). Puede tener origen natural o antrópico, el cual se genera tras diversas actividades desarrolladas por el ser humano, ya que el desarrollo industrial conllevó a una mayor demanda de agua y generación de residuos. La contaminación hídrica genera consecuencias negativas en los cuerpos

de agua, que resultan en una menor disponibilidad de agua dulce de calidad adecuada, la alteración, degradación o muerte de las distintas formas de vida acuática, transmisión de enfermedades entre seres vivos por contacto e ingesta de aguas contaminadas, reducción de los usos potenciales del agua (vida acuática, riego, recreación, otros), aumento del costo de producción de agua potable, pérdida de belleza escénica y del uso turístico o recreativo, etc. (Garc, 2009)

La contaminación hídrica puede ocurrir de dos formas:

- Los originados por fuentes fijas: cuando existen sitios puntuales de descargas (generalmente continuas) de aguas residuales, va a parar directamente a las masas de agua receptoras y son fácilmente cuantificables y controlables.
- Los originados por fuentes no fijas: esto ocurre cuando existe una multiplicidad de pequeñas fuentes de descargas, cuyos aportes no son localizados ni continuos y cuyo acceso a los cursos o cuerpos de agua es por derrame o filtración a través de los suelos. Este fenómeno se llama contaminación difusa, ya que los contaminantes no tienen un punto claro de ingreso en los cursos de agua receptores, por lo tanto, su identificación, medición y control se dificulta más que en el caso de la contaminación proveniente de fuentes localizadas. Los contaminantes de fuentes no localizadas, son trasladados por la superficie terrestre o penetran en el suelo, arrastrados por el agua de lluvia y la nieve derretida, abriéndose paso hasta las aguas subterráneas, tierras húmedas, ríos y lagos y, finalmente, hasta los océanos en forma de sedimentos y cargas químicas transportadas por los ríos. (González, 2007).

De acuerdo con GESAMP (2001), las principales fuentes fijas de contaminación corresponden a las plantas industriales, desechos municipales y sitios de extracción, explotación y construcción. Las fuentes difusas más evidentes corresponden a la agricultura, por el uso de pesticidas e insecticidas, así como el aporte de residuos de insumos agrícolas y restos de vegetales y animales. La actividad forestal intensiva, sobre todo de plantaciones, también es una fuente

difusa de contaminantes y produce, al igual que la actividad agrícola, cargas de nutrientes, pesticidas y sedimentos. Además está el aceite y desechos por desgaste de vehículos en vialidades urbanas, lavado de zonas de actividades mineras y materiales tóxicos de áreas urbanas y suburbanas, estos escurrimientos encuentran su camino cuesta abajo de la cuenca hacia los cuerpos de agua (arroyos, ríos y lagos), ya sea de modo directo o a través de sistemas de drenaje. (Escobar, 2002).

La contaminación difusa es un proceso en el cual ocurre un cambio de la composición natural en un cuerpo o curso de agua, consecuencia de la descarga de numerosas fuentes de aguas residuales, está estrechamente relacionada con las actividades agrícolas y silvícolas. En el caso de las aguas superficiales, se estima que los principales cambios tienen que ver con: el incremento en la concentración de nutrientes (nitrógeno y fósforo, principalmente) disueltos en las aguas, acelerando el proceso de eutroficación. La presencia de residuos de plaguicidas, algunos disueltos y otros insolubles; pero adheridos a materias sólidas en suspensión o sedimentables. (González, 2007).

1.2 Bioensayos de toxicidad y bioindicadores

La Agencia de Protección Ambiental (EPA) define el término toxicidad como, grado al cual una sustancia o mezcla de sustancias puede hacerle daño a los seres humanos o animales. Debido a los problemas ambientales que se han generado en las últimas décadas, la EPA ha desarrollado técnicas y metodologías que permitan la evaluación de riesgo ecológico de los contaminantes tanto para suelo, como para cuerpos de agua. El bioensayo fue desarrollado para evaluar el posible efecto negativo en organismos vivos, estas metodologías consisten en exponer a un grupo de individuos de una determinada especie a distintas diluciones de una muestra o sustancia durante un tiempo predeterminado y bajo condiciones estandarizadas en un laboratorio, evaluando sus efectos agudos o crónicos para cuantificar el grado de daño que la muestra puede ocasionar en los organismos expuestos a esta y a que concentraciones ocurre. (Norberg-King et al., 1992).

El bioindicador es el organismo empleado en estas pruebas, debido a que responden mediante alteraciones en su fisiología o a través de su capacidad para acumular contaminantes. (Anze et al., 2007). *Daphnia magna* es el crustáceo cladócero comúnmente utilizado en ensayos ecotoxicológicos, debido a sus características de reproducción, ciclo de vida corto y alta sensibilidad a la presencia de bajas concentraciones de contaminantes. En general *Daphnia* es menos tolerante que los peces a las sustancias tóxicas, son consumidores primarios y se caracterizan por ser muy sensibles a las bajas concentraciones de contaminantes. (Olmstead & LeBlanc, 2000).

1.3 Toxicidad crónica y aguda

La toxicidad crónica se genera tras exposiciones prolongadas (21 días para la *Daphnia sp*) en las que se mide la letalidad y efectos subletales (variaciones en la fertilidad y crecimiento, mutaciones o muerte), incluyendo el ciclo vital del organismo, esta se expresa como LOEC (concentración más baja en la que se observa un efecto en los organismos ensayados). La toxicidad aguda consiste en los efectos provocados tras la exposición limitada (horas o días), se expresa mediante la concentración letal 50 (LC₅₀), corresponde a la concentración que genera mortalidad del 50% de la población animal. (EPA, 1993).

1.4 Identificación y evaluación de la toxicidad (TIE)

La U.S. Environmental Protection Agency (USEPA, 1991) desarrolló esta técnica para identificar, monitorear y controlar de manera eficiente los compuestos tóxicos presentes en muestras complejas. Estos estudios son llevados a cabo por un proceso denominado Identificación y Evaluación de la Toxicidad (TIE), consta de 3 etapas (Mount & Hockett, 2000). La primera etapa TIE I, se centra en la caracterización del efluente, para esto se determinan las características físico-químicas de los constituyentes, mediante técnicas de fraccionamiento que permiten aislar los constituyentes que componen la muestra y aplicar pruebas toxicológicas (EPA, 1988). Permite clasificar los compuestos tóxicos en las siguientes categorías:

cationes, aniones, metales quelantes, compuestos orgánicos apolares, compuestos volátiles, materia filtrable ó material particulado y oxidantes. La segunda etapa, corresponde a la identificación de los agentes responsables de la toxicidad de los efluentes (EPA, 1989). La tercera fase, consiste en la confirmación de la causa de la toxicidad en los efluentes, resulta necesaria para demostrar que los compuestos tóxicos sospechosos provoquen la toxicidad observada (EPA, 1992b), con el objetivo de planificar medidas que reduzcan la toxicidad.

A partir de estos procedimientos se ha logrado caracterizar e identificar tóxicos en muestras de efluentes, sedimentos, ambientes acuáticos y otras mezclas complejas, consolidándose como una guía para el tratamiento de sus efluentes. (Besser et al., 1998; Mount & Hockett, 2000; Hongxia et al., 2004).

Es necesario mencionar algunos estudios donde se han aplicado los TIE, por ejemplo, en el efluente de la industria de aceite de palma (POME). La calidad de la descarga final se determina normalmente en función de la demanda biológica de oxígeno (DBO) y la demanda química de oxígeno (DQO). Hashiguchi et al.,(2019) realizó pruebas de toxicidad aguda y evaluación de identificación de toxicidad (TIE) utilizando *Daphnia magna*, para evaluar la toxicidad de la descarga final de POME en cuerpos de agua y desarrollar tecnologías de tratamiento adecuadas. Se aplican bioensayos de toxicidad aguda con *Daphnia magna* como bioindicador, antes y después de cada fraccionamiento TIE para cada muestra, determinando si la técnica redujo su toxicidad y así caracterizar los componentes tóxicos presentes. La Fase I incluyó adiciones de ácido etilendiaminotraacético (EDTA) y tiosulfato de sodio para determinar la presencia de metales catiónicos y agentes oxidantes, respectivamente. También se realizaron pruebas de aireación con ajuste de pH para detectar compuestos volátiles u oxidativos, filtración con ajuste de pH para retener las partículas sólidas y extracción en fase sólida (SPE) con columnas de c18 a diferentes pH para detectar la presencia de compuestos orgánicos apolares. Se registro un rango de toxicidad de 3.4 a 11 TU (toxicity unity), las toxicidades de todos los efluentes disminuyeron después del ajuste del pH. El tratamiento a bajo pH fue

más eficaz que con alcalino para reducir la toxicidad, asimismo, la aireación y filtración resultaron efectivos, especialmente después del ajuste del pH. Por ello se determina que los compuestos volátiles u oxidables (probablemente amonio desionizado) y sólidos en suspensión sensibles a variaciones de pH son los responsables de la toxicidad. La adición de EDTA y tiosulfato de sodio no mostró gran reducción de toxicidad, lo que sugiere que los metales y oxidantes no eran causantes de toxicidad. El tratamiento C18 SPE retuvo compuestos tóxicos en la columna y los niveles de toxicidad registrados fueron más bajos que los del tratamiento por filtración, lo que indica que los compuestos orgánicos no polares contribuyeron a la toxicidad aguda.

Air et al. (2008) caracterizan un efluente(E1) proveniente de un molino de Kraft mediante metodologías TIE, las muestras fueron tomadas de los efluentes del primer paso de extracción (E1) del proceso de blanqueo en un molino Kraft, este efluente contiene la mayoría de los compuestos tóxicos que se encuentran en el proceso de efluente final. Este estudio se centró en la caracterización físico química y ecotoxicología del efluente con metodologías TIE para identificar los compuestos responsables de la toxicidad, para ello se realizaron bioensayos de toxicidad aguda en *Daphnia magna* y fraccionamientos TIE, estas fueron: los test de ajuste de pH, graduación de pH, aeración con ajuste de pH, filtración con ajuste de pH, quelación con ácido etilendiaminotetraacético , test de intercambio de catiónico y aniónico y columna de carbono activado, para todos los test se realizan pruebas de toxicidad del efluente antes y después del tratamiento, para determinar si la toxicidad reduce. Los resultados de la caracterización físico química indican que el tratamiento con carbón activo fue el método más efectivo para reducir la toxicidad (de 3.63 TU a 1TU), EDTA también logro reducir la toxicidad (de 3.63 TU a 1.05TU), determinando que los compuestos orgánicos y metales son los responsables de la toxicidad, además los test de intercambio aniónico y catiónico, indican la presencia de compuestos inorgánicos ya que redujeron la toxicidad a 1.47 y 1.93 TU respectivamente.

Jin et al., (1999) aplicaron metodologías TIE en un efluente descargado por la planta de Gasificación de Carbón en Nanjing, China, para ello se determinó la toxicidad del efluente sin tratar por bioensayos de toxicidad crónica, (obteniendo 4.38TU) y aplicando la metodología TIE fase I. Se realizó el test de ajuste de pH, aeración con ajuste de pH, filtración con ajuste de pH, extracción de fase solida (SPE), EDTA y ensayo de pH graduado y test con zeolita, además se realizaron pruebas de toxicidad crónica con *Daphnia magna* antes y después de cada manipulación, para observar variaciones de toxicidad. Se determinó que tras la aeración a pH 11 se logró reducir parcialmente la toxicidad, indicando que los tóxicos son compuestos volátiles u oxidables. Las pruebas de graduación de pH sugieren que el amonio o algunos metales contribuyen con la toxicidad del efluente. Se realizó una prueba de zeolita con la muestra de efluente 1 para identificar si el amoníaco era un tóxico en el efluente, la zeolita redujo la toxicidad del efluente a 3.78TU y, por lo tanto, se comprobó que era uno de los compuestos responsables de la toxicidad. Además, la muestra traspasó una columna de carbono, la cual retuvo los compuestos orgánicos apolares y redujo la toxicidad a 1.41TU. Se aplicó un análisis químico del concentrado obtenido tras la columna de carbón activo, se identificaron 10 fenoles volátiles, la toxicidad total estimada de todos los fenoles volátiles detectados fue de 3,65TU, por lo tanto, estos compuestos orgánicos apolares se identificaron los principales responsables de la toxicidad.

Ra et al., (2016) evaluaron la toxicidad en un efluente proveniente de instalaciones farmacéuticas ubicadas en Corea del Sur, aplicando TIE y pruebas de toxicidad usando *Daphnia magna* como bioindicador. El 87% de las aguas residuales de las instalaciones farmacéuticas son vertidas en la planta de tratamiento (PTAR). Se aplicaron test de toxicidad crónica utilizando *Daphnia magna* en las muestras y posteriormente manipulaciones TIE. Las técnicas TIE consistieron en filtración, extracción en fase sólida (SPE) C18, reducción con tiosulfato de sodio y quelación con EDTA, para tamizar las partículas en suspensión, eliminar compuestos orgánicos no polares, eliminar compuestos oxidativos y metales pesados

respectivamente. Debido a que en la fase 1 las muestras manipuladas por SPE mostraron una disminución significativa de la toxicidad, se analizaron los compuestos orgánicos extraídos de la columna SPE y se analizó la presencia de iones metálicos en el efluente y partículas. Se determinó una toxicidad superior a 16 unidades tóxicas (TU) en todas las muestras. Las toxicidades se redujeron drásticamente a 1,4 y 3,4 TU después de la manipulación de C18 SPE en las muestras, identificando a los compuestos orgánicos no polares disueltos como el principal responsable de la toxicidad manipulaciones de TIE. Entre los 48 compuestos orgánicos identificados, tres compuestos (es decir, acetofenona, benzoimida y benzotiazol) estaban relacionados con el procedimiento de producción farmacéutica, identificaron que las partículas y los metales pesados, como Cu y Zn, contribuían a la toxicidad restante. En base a los estudios y dada la ubicación de la planta se recomiendan procesos de tratamiento avanzados, como la adsorción de carbón activado, para reducir la toxicidad de la descarga de compuestos farmacéuticos relacionados en el río.

La actividad ganadera genera residuos peligrosos como lo es el purín de cerdo, este corresponde a la fracción líquida del estiércol, debido a su presencia de materia orgánica (DBO5) se emplea el tratamiento anaeróbico, el cual no reduce de manera eficiente los compuestos iónicos presentes en los purines porcinos, lo que implica un riesgo potencial para los ecosistemas acuáticos (escorrentía superficial). Villamar et al., (2014) evaluaron las características ecotoxicológicas de purines porcinos tratados anaeróbicamente mediante pruebas de toxicidad aguda y crónica con *Daphnia magna* y *Raphanus sativus* e identificación de compuestos sospechosos de toxicidad mediante el método de Evaluación de Identificación de Toxicidad (TIE). Se tomaron muestras de purines de cerdos crudos en una granja industrial de engorde de cerdos, ubicada en el centro-sur de Chile, se realizaron pruebas de toxicidad aguda en las muestras antes y después de cada tratamiento, utilizando *Daphnia magna* y semillas de *Raphanus sativus*, exponiéndolas por 48 y 144 horas respectivamente. Las manipulaciones seleccionadas fueron el test de

adaptación, test de graduación y de aireación con ajuste de pH, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), intercambio aniónico (AE), intercambio catiónico (CE), reactivos de intercambio mixto (ME) y la columna de carbón activado. La caracterización físico química determinó que la digestión anaeróbica de purines porcinos reduce la materia orgánica biodegradable y los metales (Cu y Zn), Sin embargo, no elimina de manera eficiente el amonio y los cloruros, lo que aumenta la toxicidad aguda para *D. magna* en un 34% con respecto a la suspensión cruda, pero reduce un 65% la toxicidad aguda para las semillas de *R. sativus*. El purín tratado anaeróbicamente contenía concentraciones de amonio de 1.072 mg/l, cloruro de 815 mg/l y metales por debajo de 1 mg /l con una toxicidad aguda para *D. magna* (48h-CL₅₀) del 5,3% y *R. sativus* (144h-CL₅₀) del 48,1%. El intercambio catiónico redujo la toxicidad y el amoníaco libre en más de un 90% para ambos bioindicadores. Además, esta condición estimuló el crecimiento de *R. sativus* entre un 10% y un 37%, por tanto, el principal compuesto sospechoso de causar toxicidad aguda en *D. magna* y toxicidad aguda / crónica en *R. sativus* es el amonio. Los hallazgos sugieren la necesidad del tratamiento con amonio antes de la reutilización agrícola de purines porcinos dado el alto riesgo de contaminar el medio acuático por escorrentía y toxicidad de plantas sensibles.

Para evaluar la aplicabilidad de los lodos recuperados de las plantas de tratamiento de aguas servidas en la agricultura como fertilizante, Hongxia et al., (2004) aplicaron métodos TIE y pruebas de toxicidad en *Daphnia magna* para caracterizar, identificar y confirmar compuestos orgánicos en afluentes y efluentes. Se recogieron aguas residuales afluentes y efluentes de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Changzhou en la provincia de Jiangsu, China. Le fueron aplicados test de toxicidad aguda en *D. magna* de 24hrs a las muestras recolectadas de afluentes y efluentes, antes y después de cada manipulación TIE. Los procedimientos TIE de fase I caracterizan los compuestos que causan toxicidad en una muestra acuosa. Las pruebas realizadas incluyeron la adición de EDTA, aireación con pH ajustado y filtración con pH ajustado, la extracción en fase sólida (SPE) con columnas C18 a

diferentes pH. Se determinó que los afluentes registraron toxicidad aguda en *D.magna*, cuyos rangos de EC₅₀ a 24 horas fueron 29,73 -30,78%. En la prueba TIE de fase I aplicado a los afluentes, se obtuvieron valores de toxicidad más bajos (rango de 1 a 2.25TU) a pH 3 y pH 6,98(i) que a pH 11 y sugieren que los tóxicos sospechosos pueden ser productos químicos de base ácida. La adición de EDTA y Na₂S₂O₃ no mostró reducción en la toxicidad del afluente, sugiriendo pocos metales y oxidantes presentes. el tratamiento con C18 SPE pareció retener la mayoría de los compuestos tóxicos en la columna y redujo la toxicidad en todas las manipulaciones, indicando la presencia de compuestos orgánicos como la mayor causa de toxicidad. Tras analizar la fase solida resultante de la columna C18 se identificó como predominantemente 2-propilbezaldehído oxima en una concentración de 1,50 mg / L. Los resultados de la fase I de TIE sugieren que los tóxicos sospechosos son compuestos orgánicos (como fenoles, anilinas e indoles) que se estaban degradando en ácidos aromáticos y metales (Cd, Pb, Cr, Cu, Zn, Ni, K, Ca, Na, Mg, Al, Fe, Mn, Ba, Ti, Ce, V, Mo y Sn), los cuales son perjudiciales para el suelo agrícola y pueden liberarse fácilmente de los lodos al medio ambiente circundante, por lo tanto el lodo deshidratado no debe usarse directamente como fertilizante para la agricultura.

El lixiviado es el líquido percolado del agua de lluvia y humedad a través de las capas de desechos en los rellenos sanitarios o vertederos, Budi et al., (2016) evaluaron los impactos potenciales de los lixiviados sobre el ecosistema acuático mediante TIE, este método, que combina el fraccionamiento físico y químico de los lixiviados con la prueba de bioensayo, puede potencialmente identificar las principales clases de sustancias tóxicas presentes antes de una confirmación adicional mediante análisis químico. Se tomaron muestras de lixiviados sin procesar de un vertedero municipal de residuos sólidos ubicado en Malasia. Les realizaron bioensayos de toxicidad aguda antes y después de cada fraccionamiento TIE con un pez de agua dulce (*Rasbora sumatrana*), una gamba de agua dulce (*Macrobrachium lanchesteri*) y semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*),

determinando la CL₅₀ de 24 h / 96 h para los organismos de prueba (24h para el pez y la gamba, 96h para las semillas). Los fraccionamientos aplicados de la primera fase son: ajuste de pH, filtración con ajuste de pH, aireación, extracción con columna de fase sólida C18 (SPE), reducción oxidante con tiosulfato de sodio y quelación con EDTA. La CL₅₀ de 24 h calculada para *R. sumatrana* y *M. lanchesteri* corresponden a 0.817%, 1.386% respectivamente y la EC₅₀ de 96 h del lixiviado para las semillas de *L. esculentum* fue de 3.511%. siendo *R. sumatrana* el organismo más sensible a los lixiviados. Las especies responden de manera diferente a sustancias tóxicas similares debido a que su dieta normal también es diferente. Los resultados de TIE fase I determinan que los test de aeración con ajuste de pH, ajuste de pH, filtración con ajuste de pH y columna SPE presentan los mayores porcentajes de reducción de la toxicidad a pH3 para todas las especies, probablemente debido al contenido significativamente alto de sustancias básicas como el amoníaco u otras sustancias químicas básicas, podían precipitarse en condiciones ácidas y también contenían compuestos orgánicos apolares.

Identificación y evaluación de la toxicidad del drenaje de mina, el cual se forma principalmente en los botaderos de rocas y zonas de relaves, se caracteriza por su pH ácido y alta concentración de sulfatos y metales pesados. Debido a que su composición depende de la geología de cada yacimiento minero, el objetivo del estudio llevado a cabo por Marisol & Rebolledo,(2017) fue identificar los componentes presentes en drenaje ácido de mina que producen toxicidad aguda. Se analizó una muestra de DAM de una minera del Norte de Chile, la cual se caracterizó fisicoquímicamente y se evaluó la toxicidad de esta a través de bioensayos empleando la metodología de Evaluación e Identificación de la Toxicidad (TIE) con *Daphnia magna* y *Chlorella vulgaris*. Los fraccionamientos TIE aplicados fueron: adaptación de pH, resinas de intercambio aniónico, filtración, carbón activado, quelantes y aireación. Al analizar los resultados se determinó que la toxicidad del DAM para *Daphnia magna* se produce a una LC₅₀ 0,0016%. Después de haber fraccionado la muestra, adaptando el pH y reduciendo metales,

esta no presentó toxicidad aguda, por lo que se puede concluir que la toxicidad sobre este organismo está dada debido a los metales pesados. En el caso de *Chlorella vulgaris* se vio una marcada disminución de la fluorescencia emitida por el alga a la dilución de 10% del DAM sin fraccionar y en el fraccionamiento de resina aniónica. En la fracción con menos concentración de sulfatos no se observan diferencias significativas con el control, por lo que se concluye que en el caso de *Chlorella vulgaris*, la toxicidad se da principalmente por la presencia de sulfatos.

1.5 Problemática de toxicidad crónica en el río Itata

En recientes monitoreos llevados a cabo por el Centro EULA, durante el año 2020 y 2021 se ha detectado toxicidad crónica en múltiples estaciones ubicadas en el sector medio del río Itata, se determinaron valores de LOAEC de 6,25% y NOAEC <6,25% para las muestras de agua superficial en ambos años (EULA,2021).

Según los estudios llevados a cabo por Cooman et al., 2005, los fenómenos de lluvia, están estrechamente relacionados con la toxicidad. El estudio se enfocó en la ciudad de Chillan, región de Ñuble, donde existen múltiples focos de contaminación provenientes de plantas de aguas servidas y actividades agrícolas. Las muestras de agua superficial tomadas del río Chillan presentaron toxicidad aguda y crónica para *D. Magna* y *D. pulex*. La toxicidad aguda fue detectada tanto en invierno (julio) como en verano (marzo), en marzo solo se detectó toxicidad aguda en aquellas estaciones cercanas a descargas de aguas servidas, en julio casi la mitad de las estaciones se detectó toxicidad aguda y se relacionaba con su cercanía a zonas agrícolas y forestales. Se observó un descenso significativo de la toxicidad tras filtrar las muestras con un filtro de 0.45 μm . Lo cual indica que la toxicidad observada se relaciona con partículas o sólidos suspendidos de 0.45 μm , cabe señalar que en este periodo de tiempo se determinó mayor concentración de sólidos suspendidos en las muestras. La toxicidad crónica fue detectada en bajos índices durante el verano y en altos niveles en invierno para la mayoría de las estaciones, esto se relaciona con el incremento caudal y fenómenos de lluvia, debido a que podría influir en que las partículas sedimentadas se distribuyan en la

columna de agua. En todas las muestras (verano e invierno) se detectaron pesticidas en bajos niveles (clorpirifos, heptacloro, endrin, endosulfan y metoxicloro), excepto para junio y julio donde se hallaron altos niveles de atrazina, debido a ello, la toxicidad aguda está relacionada con este pesticida. Por lo tanto, se concluye que la toxicidad crónica fue causada por un efecto aditivo o sinérgico, debido a la mezcla de pesticidas. los pesticidas pueden adherirse a los sólidos suspendidos, por ello es posible que los compuestos hayan sido atrapados por el filtro, cabe destacar el carácter estacional de la toxicidad, ya que durante el invierno y producto de las lluvias y los aumentos de caudal generan que las partículas se dispersen con mayor facilidad.

De acuerdo con Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas (FAO, 1990), un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar determinada plaga, ya sea vectores de organismos causantes de enfermedades, especies vegetales o animales que causan perjuicio o que interfieren en la producción de alimentos, productos agrícolas o forestales. El término "plaguicida" comprende todos los productos químicos utilizados para destruir las plagas o controlarlas. En la agricultura, se utilizan herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas y rodenticidas. De acuerdo con Ongley (1997), las prácticas agrícolas que involucran pesticidas, generan la escorrentía de estas sustancias, provocando disfunción del sistema ecológico en las aguas superficiales por pérdida de los depredadores superiores, debido a la inhibición del crecimiento y a los problemas reproductivos asociados a los plaguicidas; conlleva a consecuencias negativas en la salud pública debido al consumo de pescado contaminado. Cabe destacar que los plaguicidas pueden ser trasladados como partículas de polvo por el viento hasta distancias muy lejanas y contaminan sistemas acuáticos que pueden encontrarse a miles de millas de distancia. Los efectos ecológicos de los plaguicidas van más allá de los organismos individuales ya que pueden estar asociados a una combinación de presiones ambientales, en un medio natural los organismos acuáticos se ven

expuestos a múltiples insecticidas simultáneamente, sumado a los estresores naturales como la limitación del alimento, extremas variaciones de temperatura y oxígeno disuelto, los impactos negativos de los compuestos químicos en la funcionalidad ecosistémica se ven potenciados. (Hanazato, 1999).

Existen 400 plaguicidas registrados y autorizados por el servicio agrícola ganadero (SAG), 102 de ellos son altamente peligrosos para la salud humana y el ecosistema, según los sistemas de calificación de la Unión Europea, el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de productos químicos y la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. (Rozas, 2019). Se estima que el 90% de los pesticidas usados en actividades agrícolas, no llega al organismo objetivo, sin embargo, es dispersado a través de los compartimientos ambientales como el aire, suelo y agua. (Moses et al., 1993).

De acuerdo con las cifras de ventas otorgadas por el SAG, para el año 2019 en la región de Ñuble se comercializaron alrededor de 1748408.8 kg de pesticidas, el cual equivale al 3% del total nacional. Los ingredientes activos con mayores volúmenes de ventas corresponden a metam-sodio, glifosfato-potasio, aceite parafínico, glifosato-isopropilamonio, hidróxido de cobre, simazina, mcpa-dimetilamonio, azufre, dicloruro de paraquat, clorpirifos, pendimetalina, dodina, cianamida hidrogenada, oxifluorfenol y dimetilamonio. (SAG, 2019).

La productividad agrícola en el Valle Central de Chile, región de Ñuble, ha aumentado en comparación con años anteriores (CIREN, 2014). Varios autores señalan la presencia de sustancias tóxicas en la zona, donde se concentra el 38% de las exportaciones agrícolas nacionales (ODEPA, 2014). Montory et al., (2017), tomaron muestras del río Ñuble, en las cercanías de Chillán, detectando compuestos organoclorados (OCP) tales como heptacloro, lindano, endosulfán, aldrina y HCH (a pesar de su prohibición en Chile). Aseguran que la presencia de estos OCP en esta ubicación está relacionada con el transporte de largo alcance ya que, Ñuble no solo es un importante receptor de OCP, sino que es también una fuente de exposición y distribución dentro de la cuenca, ya que permite la conexión con otros

compartimentos ambientales, incluidos los flujos de agua subterránea hacia los ríos Cato y aguas abajo del Itata.

Bertin et al.,(2020), detectaron disruptores endocrinos con actividad estrogénica en muestras de sedimentos del río Chillán, en un área donde ocurren actividades de agricultura, silvicultura y aguas abajo de las plantas de tratamiento de agua de las áreas urbanas de Chillán. La agricultura es el uso del suelo predominante en la cuenca e incluye tanto la cría de animales (vacas, caballos, cerdos y ovejas) como el cultivo de cultivos. El estiércol de ganado contiene cantidades apreciables de hormonas que puede causar contaminación con hormonas esteroideas de las fuentes de aguas superficiales y subterráneas (Hanselman et al., 2003; Matthiessen et al., 2006; Chen et al., 2010; Tremblay et al., 2018). Además, plantean que muchos plaguicidas utilizados para aumentar la productividad agrícola actúan como disruptores endocrinos.

Estudios efectuados por Henríquez et al., (2006), indican que el área urbana de Chillán y Chillán Viejo, ubicada en el valle del río Itata entre el Río Ñuble y río Chillán, presenta altas concentraciones de hidrocarburos totales, debido a los servicios de llantas vecinas, distribuidores de gasolina, talleres mecánicos, tornerías, aserraderos y talleres de reparación de motores. Además, determinaron altas concentraciones de plaguicidas en muestras de suelo, tales como Aldrin, DDT, Dieldrin y DDE. Esto podría deberse al uso agrícola, aceras sin pavimentar o al relleno con material extraído de riberas de ríos, tierras agrícolas o residuos agrícolas.

Hetz & Brevis, (2010) realizaron un levantamiento de datos en 15 huertos de arándano ubicados en las comunas de Coihueco, Chillán, Pemuco, Pinto, San Carlos y San Nicolás del Valle Central de la región de Ñuble, tras visitas a terreno y encuestas al personal técnico de los huertos, se determinó que las condiciones y metodologías de aplicación de plaguicidas resultan obsoletas y no logran asegurar que las aplicaciones sean eficientes, de alta calidad o confiabilidad. Además, Las tasas de aplicación de la solución de plaguicida son muy altas, con 1.700 L/ha en

promedio y se generan problemas de seguridad para los operadores y el medio ambiente, debido a la ausencia de un Sistema de Protección para Volcamientos.

La cuenca hidrográfica del río Itata se localiza en la decimosexta región de Ñuble, este complejo sistema hídrico abarca una superficie de 11.294 km² aproximadamente, el río principal se origina en el punto de confluencia de los ríos Cholguán y Huépil, va captando los tributarios de los ríos Danicalqui, Diguillín, Larqui y Ñuble, además recibe las aguas de los ríos Los sauces, Cato y Chillan. El cauce principal del río Itata posee una longitud de 195km y sus principales afluentes nacen en la cordillera y precordillera de los andes, recibiendo el aporte de sus deshielos de nieve y glaciares, al igual que las precipitaciones. El Itata alcanza un caudal medio anual de aproximadamente 120m³/s en su cuenca media baja ubicada en nueva aldea, mientras que la desembocadura presenta un caudal medio de aproximadamente 240m³/s debido al aporte de su afluente principal, el río Ñuble (Cade-Idepe, 2004). La cuenca del Río Itata posee influencia de bioclima mediterráneo, presentando al menos dos meses consecutivos del período estival con déficit hídrico. Esta cuenca presenta un régimen pluvial, con muy poca influencia nival, con la excepción de la parte alta del río Ñuble, que muestra un carácter mixto. (DGA, 2004).

La agricultura es una de las principales actividades productivas desarrolladas en torno al río Itata, destaca por su extensa superficie destinada a su producción. El uso del suelo de tipo agrícola en la cuenca comprende 1.279 Ha equivalentes al 1,2% de la superficie total. La población dentro del área genera 100000 m³ de residuos líquidos domésticos, donde el 50% son emitidos a cuerpos de agua superficiales mediante 17 fuentes puntuales, el resto es emitido por fuentes difusas. (CONAMA, 2007).

Gran parte de aguas residuales vertidas en el río Itata y sus afluentes proceden de fuentes puntuales, el sector industrial forestal aporta un 60% del volumen de efluentes descargados y la mayor fuente puntual de efluentes industriales previamente tratados, provienen del complejo industrial forestal en nueva aldea. Por

otra parte, los aportes del sector agrícola y silvícola se consolidan como fuente difusa, solo se han identificado 20 fuentes puntuales; pero se estiman efluentes sin tratamiento previo de 1200-1300 m³ diarios de fuentes difusas. Estas descargas sin tratar, aunque son significativamente menores a las provenientes de fuentes puntuales, poseen mayor efecto de la calidad de las aguas el río Itata. (Urrutia, R. & Vidal, G., 2005).

2. HIPÓTESIS

El agua del río Itata presenta toxicidad crónica en el bioindicador *Daphnia magna*, asociado a la presencia de actividades productivas.

Las técnicas de fraccionamiento, permitirán identificar potenciales compuestos tóxicos presentes en la muestra de agua superficial proveniente del río Itata.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar los compuestos que producen toxicidad crónica en el agua del río Itata mediante las técnicas de fraccionamiento.

3.2 Objetivos específicos

Caracterizar las actividades que se realizan en torno al río Itata.

Determinar la toxicidad crónica presente en las muestras de agua del río Itata, con el organismo bioindicador *Daphnia magna*.

Identificar los componentes que pueden producir toxicidad crónica mediante la técnica de fraccionamiento.

4. METODOLOGÍA

4.1 Caracterización de las actividades en torno a la cuenca

Para caracterizar las actividades productivas desarrolladas en torno al río Itata, es necesario recurrir a la revisión bibliográfica, ya que se encuentran disponibles detallados informes, que proporcionan datos obtenidos de estudios previos, en relación a las actividades productivas y sus localizaciones, dichos informes son perpetuados por agencias gubernamentales como el ministerio de agricultura,

ministerio de obras públicas, el servicio de evaluación de impacto ambiental, e informes de calidad realizados por el centro EULA.

4.2 Área de estudio

En relación al área de estudio, se considera una estación de monitoreo (IT-8), como es posible apreciar en la figura N°1. Corresponde a la última estación de muestreo y está localizada en el sector medio del río Itata, inmediatamente aguas arriba de la desembocadura del río Itata hasta la confluencia con el río Ñuble, en la comuna de Ranquil, la estación es seleccionada debido a su posición, al encontrarse aguas debajo de la confluencia, nos permite obtener muestras que contengan los aportes de las aguas del río Ñuble y las presuntas sustancias que contribuyen a la toxicidad detectada. Por lo demás, se encuentra a cierta distancia de esta confluencia, así permitiendo que los resultados de los estudios no se obtengan altamente influenciados por dichos aportes. En la tabla N°1 se muestran las coordenadas geográficas y la figura N°2 presenta el sector donde se recogen las muestras.

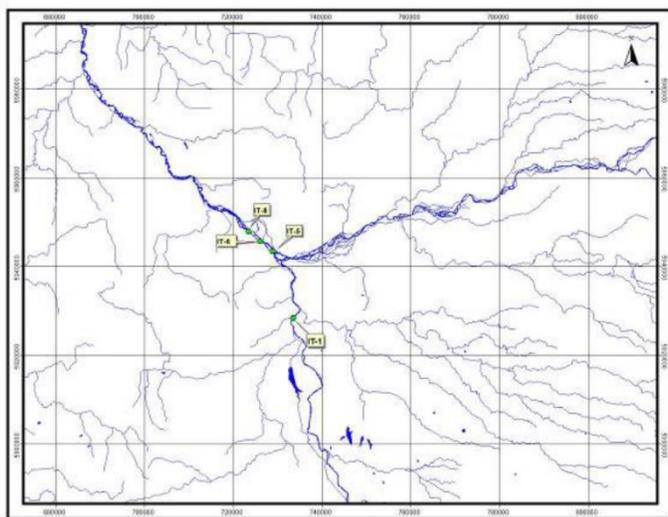


Figura N° 1: Ubicación de las estaciones de muestreo en la cuenca del río Itata.

Fuente: Elaboración propia.

Tabla N°1: Coordenadas de Estaciones de Monitoreo.

Estación	UTM N	UTM E
IT-8	5944577.921	723303.732

Georeferencias: Coordenadas UTM, Datum WGS84, Huso 18 S.

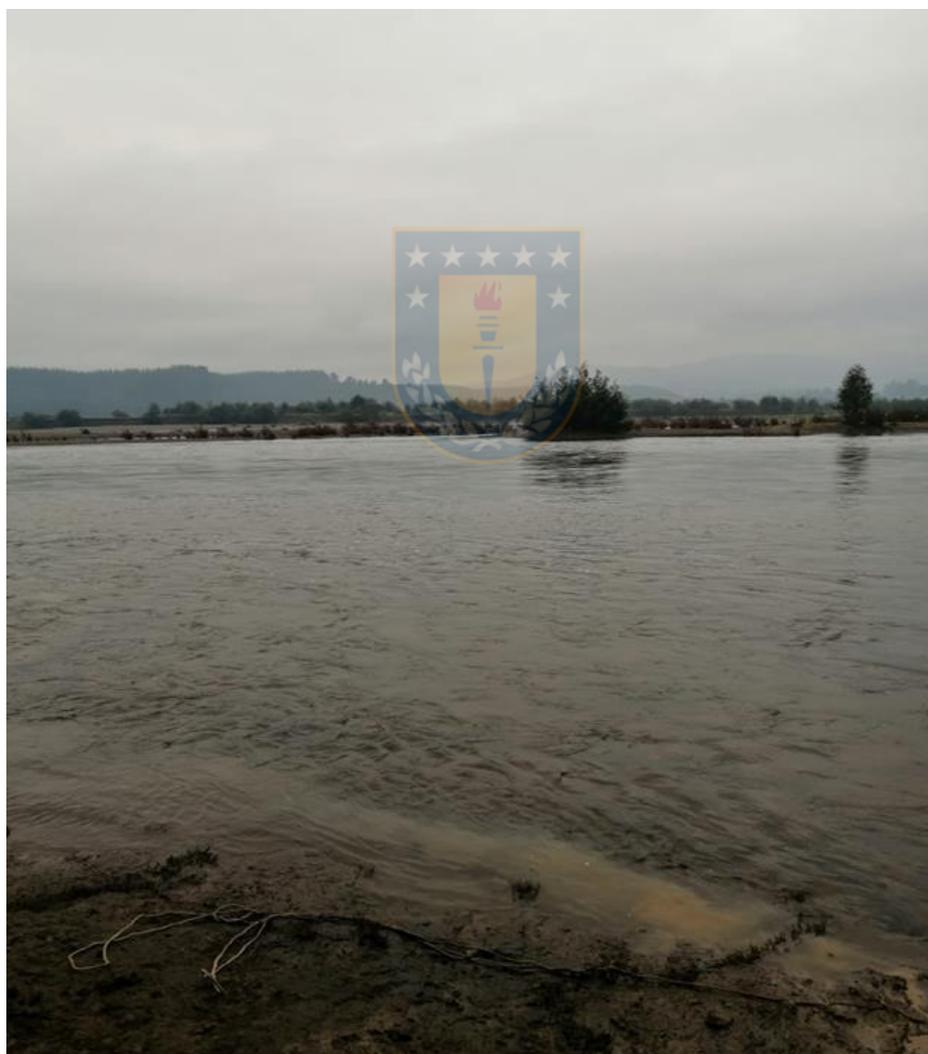


Figura N°2: Estación IT-8.

Fuente: Elaboración propia.

4.3 Muestreo

El muestreo se realizó el 1 de julio del 2021, en cada estación se colectaron un volumen de 70L de muestra, el procedimiento se basa en el “Manual de procedimientos para actividades de terreno” del Centro EULA-Chile (EULA 2002), además de la “Guía para el muestreo de ríos y cursos de agua” (NCh 411/6.Of 96) y las recomendaciones establecidas en el Manual “Ambient Fresh Water and Effluent Sampling Manual” del Resources Information Standards Committee, British Columbia, Canadá. Las muestras son almacenadas en bidones de polietileno de 10L, en total se almacenaron 35L de agua en collers a -4°C para su posterior transporte, finalmente son almacenados en refrigeradores a -4°C. Para la preparación de contenedores, identificación, llenado, preservación y transporte de las muestras, se siguieron las recomendaciones de la “Guía sobre preservación y manejo de las muestras” establecido en NCh 411/3.Of 96. Las mediciones “in situ” se llevan a cabo en una muestra de agua recolectada en un envase plástico, inmediatamente después del muestreo, estas corresponden a la medición de temperatura por medio de un termómetro de mercurio (graduación de 0,1°C de sensibilidad), el pH con un pHímetro HANNA HI 8424 y la conductividad con un medidor de conductividad HANNA HI 9033.

4.4 Test de toxicidad Crónica

Los bioensayos de toxicidad crónica son llevados a cabo de acuerdo a la norma ISO 10706:2000(E) para determinar los efectos subletales a largo plazo en el organismo bioindicador *Daphnia magna* Straus. se utilizaron cladóceros de la especie *Daphnia magna*, obtenidos de cultivos del Laboratorio de Bioensayos de Centro EULA-Chile de la Universidad de Concepción. El cultivo de dáfnidos, se mantiene en envases de 1 L a 20 °C con un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad, siendo

alimentados 3 veces por semana con microalgas (suplemento) del género (en base a levadura, harina de pescado y alfalfa). El agua de medio de cultivo de los dafnidos es cambiada 3 veces por semana y es preparada agregando NaHCO_3 (192 mg/L), MgSO_4 (120 mg/L), KCl (8mg/L), $\text{CaSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (120m g/L) a 1 L de agua destilada, a esto se le denomina agua reconstituida y sus características son descritas en la tabla 2.

Los bioensayos de toxicidad crónica son llevados a cabo según las condiciones indicadas en la tabla 3, son realizados con el agua de muestra obtenida tras cada fraccionamiento para ambas estaciones, además se realiza un control, el cual consiste en un bioensayo de toxicidad crónica utilizando agua reconstituida en vez de muestra.

Son seleccionados los neonatos, es decir, organismos cuya edad es menor a 24horas y son expuestos a las muestras de agua durante 21 días para evaluar su reproducción y supervivencia. El primer día del experimento, la muestra de agua fue diluída con agua reconstituida en una probeta graduada de 400ml (rotulada con el código de muestra, fecha y hora de inicio del experimento), hasta alcanzar concentraciones de muestra de 6.25%, 12.5%, 25%, 50% y 100%, además de un control, el cual consta únicamente de agua reconstituida, esto nos ayuda a tener un punto de referencia para las demás diluciones, pues, representará el ambiente propicio para el ciclo de vida del organismo y nos permitirá comparar sus resultados con los de las demás concentraciones.

En cada disolución se agregó 3ml de suplemento de microalgas y alimento YCT y posteriormente se disponen 40 ml de cada disolución en 10 recipientes de plástico y se introduce un neonato en cada replica, cada recipiente es agrupado y rotulado según su disolución correspondiente y son dispuestos en una bandeja de madera identificada con el código de la muestra, fecha de muestreo, fecha y hora de inicio del bioensayo y porcentaje de concentración. Es almacenado en las condiciones de laboratorio descritas en la tabla N°2 y revisado cada 48 horas registrando el número de neonatos o alteraciones en su supervivencia hasta completar los 21 días. Tras

cada registro de datos se realiza el cambio de medio según el procedimiento descrito con anterioridad. Tabla N°2: Componentes y parámetros del agua reconstituida

Tabla N°2: Componentes y parámetros del agua reconstituida.

Tipo de agua dulce	Sales requeridas (mg/L)				pH	Dureza Mg/L de CaCO ₃	Alcalinidad de Mg/L de CaCO ₃
	NaHCO ₃	CaSO ₄ ·2· H ₂ O	MgSO ₄	KCl			
Dura	192	120.0	120.0	8.0	7.8- 8.0	160-180	110-120

Tabla N°3: Condiciones de ensayo y criterios de aceptabilidad de los bioensayos de toxicidad crónica con *Daphnia magna*.

Bioensayo Crónico	Características
Duración de la prueba	21 días
Temperatura	20±0.2°C
Fotoperiodo	16horas de luz y 8horas de oscuridad Intensidad lumínica de 600 a 800 lux
Volumen de la cámara de prueba	
Volumen de la solución de prueba	

Edad de los organismos	Neonatos menores a 24horas
Numero de organismos por cámara	1
Numero de replicas por concentración	10
Numero de organismos por concentración	10
Agua de dilución	Agua reconstituida: Dureza expresada en Mg/L de CaCO ₃ :160; Ph: 7.8±0.2; OD (Oxígeno disuelto): sobre un 80% de saturación
Alimentación	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> y alimento YCT, 3 veces por semana
Cambio de medio	3 veces por semana
Criterio de toxicidad	Mortalidad LOEC
Criterio de aceptabilidad	Sobrevivencia de controles sobre 90%

4.5 Fraccionamientos TIE

Para el fraccionamiento con carbón activo se emplearon tres columnas de vidrio de 35 x 2,5 cm, cada una fue rellena con 2g de carbón activo y algodón hidrofílico, como es posible apreciar en la figura N°3. Las columnas fueron conectadas a un sistema de filtración en serie cómo es posible aprecias en la figura N°4. Este sistema estaba conectado a una bomba de vacío, la cual induce un flujo constante del efluente a través de cada columna. Se procesaron 10L de agua de muestra mediante el sistema de filtración con carbón activo, con la finalidad de identificar si

los compuestos que causan la toxicidad son orgánicos apolares. La muestra fluye a través de columna de un adsorbente que en este caso corresponde a carbón activo en polvo y los compuestos orgánicos reaccionan según su solubilidad y polaridad de tal manera que se pueden haber extraído del efluente.



Figura N°3: columnas de carbón activo.

Fuente: Elaboración propia.



Figura N°4: Sistema de filtración por columnas de carbón activo en serie.

Fuente: Elaboración propia.

La filtración se realizó mediante un sistema de filtrado, cómo es posible apreciar en la figura N°5. Este consta de una membrana de celulosa que contiene poros de $0,45\mu\text{m}$ de diámetro, insertada en un embudo conectado a un matraz Kitasato, el cual a su vez conecta con la misma bomba de vacío empleada en el test de carbón activo, la cual genera un flujo constante de efluente a través del embudo y que fluye por la membrana de celulosa, esta permite retener los compuestos tóxicos que resulta de la precipitación y filtración. Se filtran 10 L de muestra mediante este sistema y se almacenan en bidones de polietilenos de 10 L guardados en refrigeradores a temperaturas menores a 4°C para la preservación de las muestras.



Figura N°5: Filtración por membranas de celulosa.

Fuente:Elaboración propia.

4.6 Análisis estadístico

La toxicidad crónica fue evaluada mediante análisis de varianza, generando un ANOVA de un factor, siendo la variable dependiente la respuesta, en este caso el número de neonatos nacidos y la variable independiente, la concentración de muestra. Por medio del programa SPSS Statistics se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor. El método de Dunnett se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza, para las diferencias entre la media de cada nivel de factor y la media de un grupo de control, el valor "T" corresponde al valor de estas diferencias, cuando este valor es bajo, nos indica que no hay diferencia significativa entre las dos medias que están comparándose. Para ello se elige un nivel de significancia (alfa) de 0.05 (probabilidad del del 5% de concluir que existe una diferencia cuando no hay una diferencia real, por lo tanto, el nivel de confianza para todas las comparaciones es de 95%), cuando la significancia "p", calculada tras cada comparación resulta menor a 0,05, nos indica que existen diferencias significativas entre los grupos que se estén comparando, que en este caso corresponde a cada concentración y el control, cuando p es mayor a 0,05, nos indica que no existen diferencias significativas entre las comparaciones. Este análisis nos permite determinar si se registra toxicidad crónica en las muestras de agua, ya que, si la reproducción o número de neonatos de todas las diluciones de muestra, es significativamente menor a la reproducción observada para el control (el cual fue realizado con agua de medio, generando un ambiente propicio para el ciclo de vida del organismo), entonces las muestras presentan toxicidad crónica, determinada por el valor de LOAEC, el cual es la menor concentración en la que se observan diferencias significativas respecto al control y el valor NOAEC o la mayor concentración en la cual no se observan diferencias significativas, además, se calcula el porcentaje de inhibición para cada dilución, que representa el porcentaje

en el cual disminuye la reproducción del organismo respecto al control, determinado por la siguiente formula:

$$\%INHIBICION = \left(\frac{\bar{x}C - \bar{x}D}{\bar{x}C} \right) \times 100$$

Donde:

$\bar{x}C$: Numero de neonatos promedio calculados para el control

$\bar{x}D$: Numero de neonatos promedio de la dilución

5. RESULTADOS

5.1 Caracterización de las actividades productivas

La Región de Ñuble cuenta con aproximadamente 480.000 habitantes, abarcando más de 13.000 km² de territorio. Sus provincias tienen una superficie de 5.229,5 km² en el caso de la Provincia de Diguillín, 5.202,5 km² en la Provincia de Punilla y 2.746,5 km² en la Provincia de Itata. Tal como se aprecia la división administrativa de la región en la figura N°6, la provincia de Diguillín está compuesta por las comunas de Chillán, Bulnes (capital provincial), Chillán Viejo, El Carmen, Pemuco, Pinto, Quillón, San Ignacio y Yungay. La Provincia de Punilla está integrada por las comunas de San Carlos (capital provincial), Coihueco, Ñiquén, San Fabián y San Nicolás. La Provincia de Itata está formada por las comunas de Quirihue (capital provincial), Cobquecura, Coelemu, Ninhue, Portezuelo, Ránquil y Trehuaco. (González U., 2020).

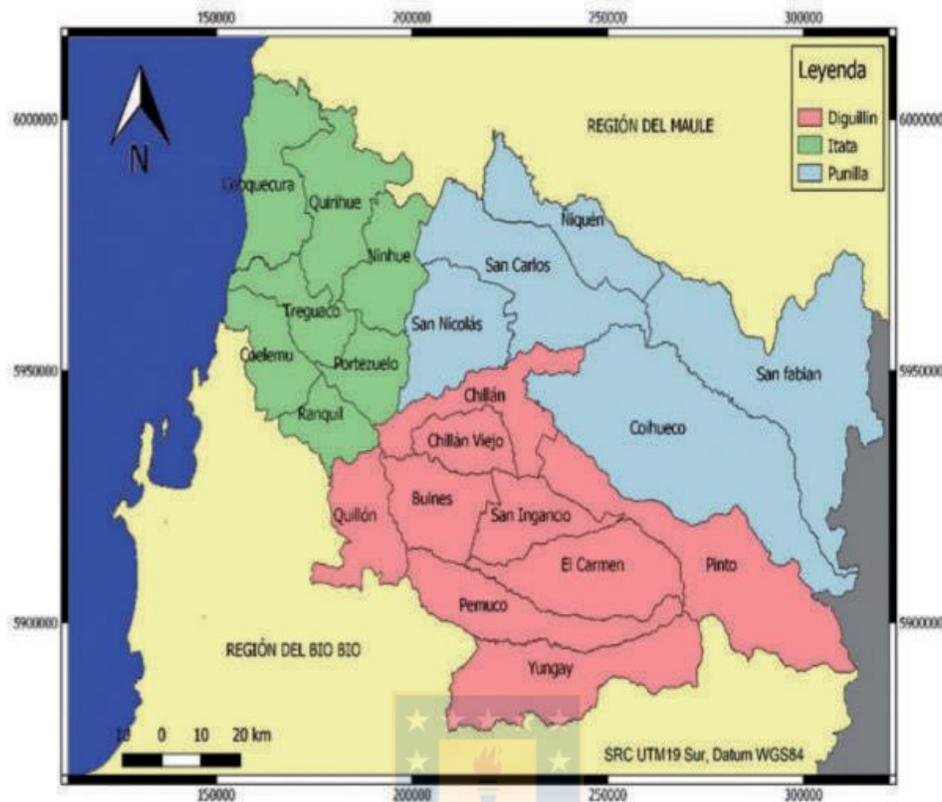


Figura N°6: Región de Ñuble, división administrativa.

Fuente: Gonzales,G. (2020). Región de Ñuble, división administrativa.

Se estima que cuenta con 147.000 residentes rurales, los cuales representan el 30,6% de la población total de la Región de Ñuble, el porcentaje más elevado de todas las regiones de Chile. De las tres provincias que conforman la región, Diguillín posee la mayor población rural, con 65.000 habitantes, es decir el 20,4% de su población total. Punilla con 56.000 habitantes rurales equivale al 53,2% de su población total, por otro lado, Itata cuenta con una población de 25000 personas, representando una marcada ruralidad del 46,1%.de acuerdo con los porcentajes las comunas con condición más rural son Ñiquén, Ránquil, Ninhue, Cobquecura, Trehuaco, Coihueco, Portezuelo y San Fabián ya que cuentan con al menos un 60% de población rural. En cambio, las comunas menos rurales son Chillán, Chillán Viejo, Quirihue y Yungay con no más de 25% de población rural. Chillán posee 91,3% de

población urbana (INE, 2019). En la región, la ruralidad está fuertemente ligada al sector productivo agrícola, consolidándose como el principal sustentador económico para la población habitante.

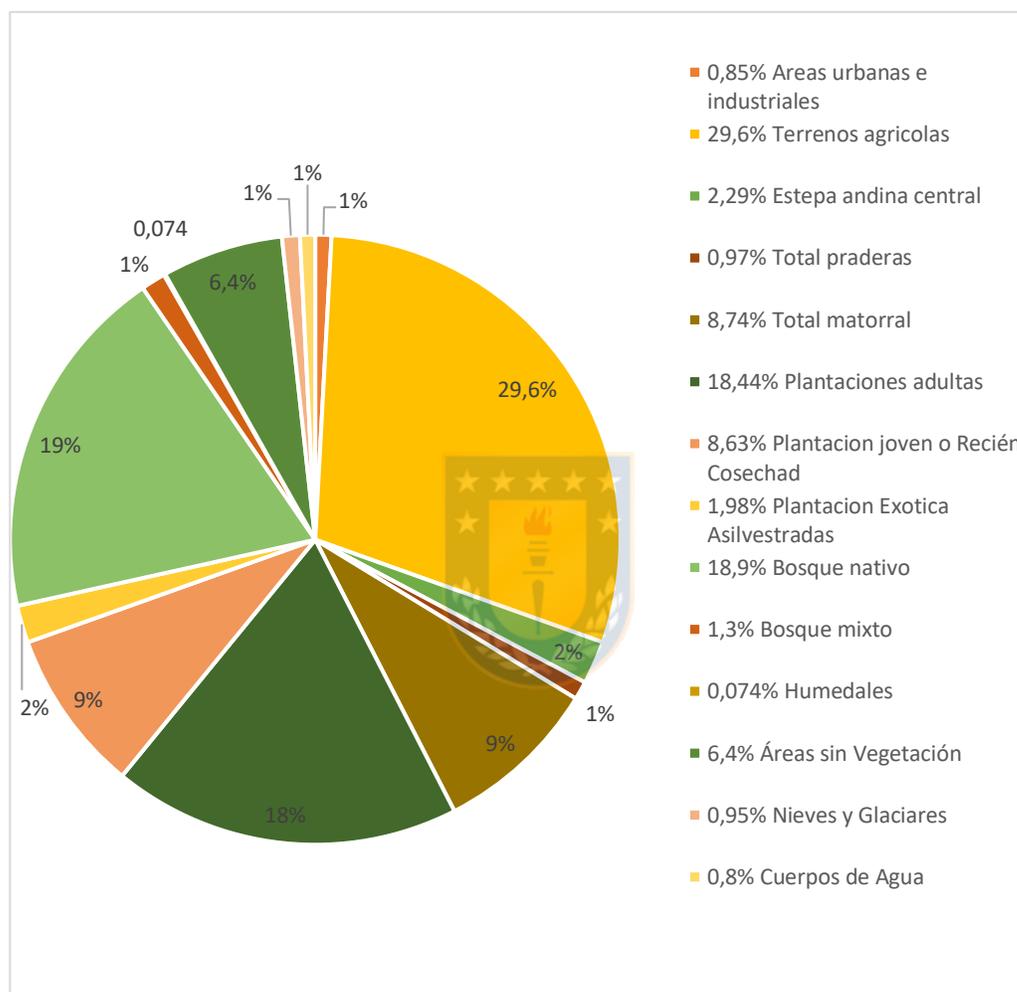


Figura N°7: Porcentajes de uso de suelos, región de Ñuble.

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con la información obtenida del sistema de información territorial (SIT) de la CONAF (2019), la superficie regional corresponde a 1.310.237,90 ha, de las cuales destinan un 29,6% para terrenos agrícolas, 29,05% para el total de plantaciones, un 18,9% para bosque nativo, 8,63% corresponde a matorrales y un 2,29% para la estepa andina central, el resto del territorio se distribuye entre áreas

urbanas a industriales, áreas sin vegetación, cuerpos de agua, humedales, nieves y glaciares en menor medida, tal como ejemplifica la figura N°7.

El río Itata y sus principales tributarios como el río Ñuble y Diguillín, abastecen como principales sistemas fluviales al Valle central, permitiendo suministrar agua para riego con los embalses Tucapel y Coihueco, los canales Perquilauquén y Quillón y, el Proyecto Laja Diguillín. De acuerdo con la información de riego más reciente, otorgada por el censo agropecuario de 2007(INE,2008), la Región de Ñuble registraba 88.093 ha regadas, 30.500 ha en la Provincia de Diguillín, 1.035 ha en la Provincia de Itata y 56.559 ha en la Provincia de Punilla. Dentro de las principales actividades económicas se encuentra la agricultura, vale decir, producción de frutas, hortalizas y vinos; la silvicultura, con plantaciones de pino y eucaliptus; y el turismo hacia los nevados, termas y balnearios.

A partir del estudio llevado a cabo por Pozo, (2013), en el cual se realizó un análisis espacial de la red de monitoreo DGA emplazada en la cuenca mediante el software ArcGis 9.2 y utilizando la información disponible en la base de datos de CONAMA Biobío y DGA, generando así una completa carta de usos de suelo de la región, representada por la figura N°8, en esta se logra apreciar que la agricultura se destaca gracias a su amplia superficie destinada a cultivos anuales, siembras de viñas y parronales en menor proporción, esta corresponde a 1.279 Ha equivalentes al 1,2% de la superficie total. Para el caso de la actividad silvícola, cuenta con 7.723 Ha que corresponden al 7,4% de la superficie total de la cuenca. Las plantaciones de bosque son ampliamente distribuidas tanto para los sectores de la Precordillera Andina como en el sector costero, destacando la explotación de la especie *Pinus radiata*.

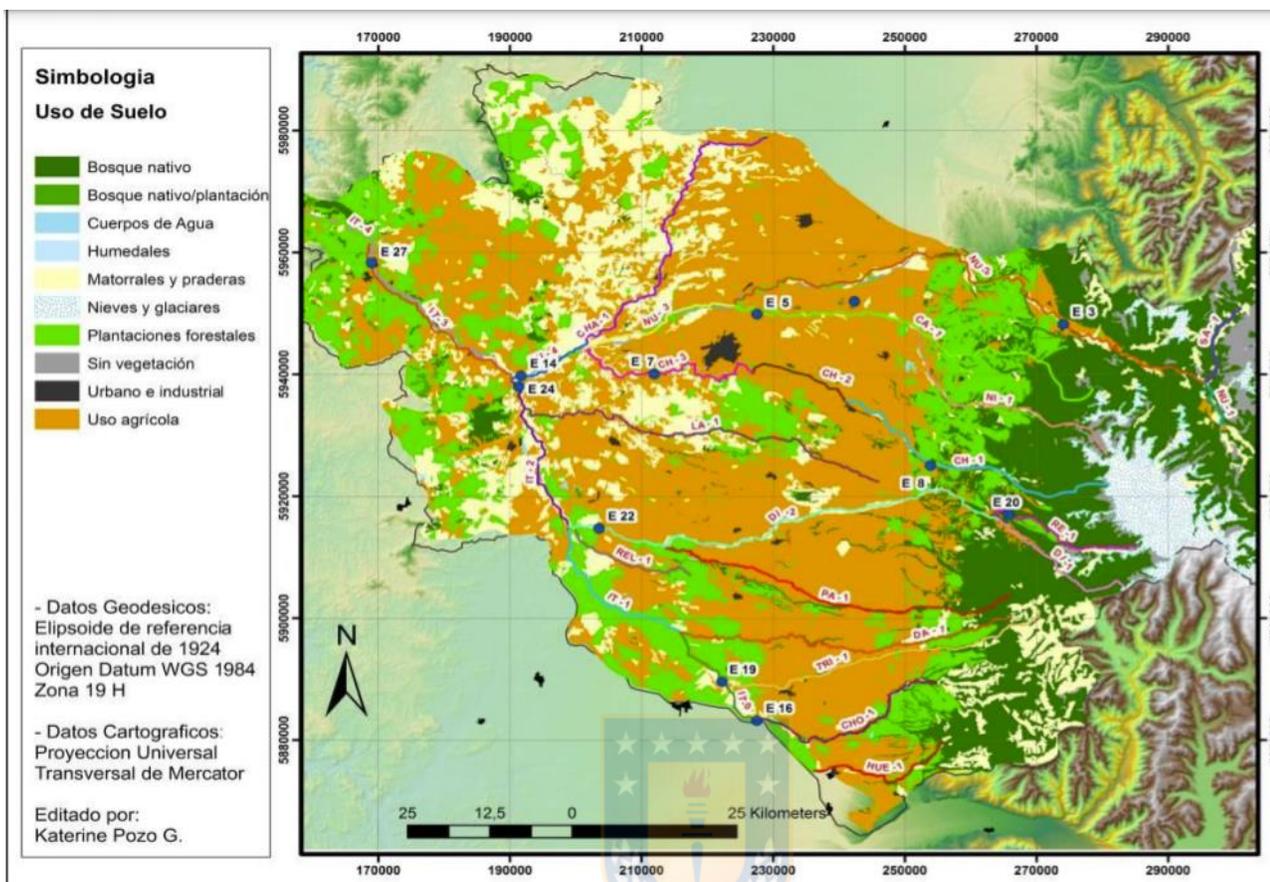


Figura N°8: Carta usos de suelo en la cuenca del río Itata.

Fuente: Fuente: Pozo,K. (2013). Carta usos de suelo en la cuenca del río Itata.

La ganadería desarrollada en la Región de Ñuble ha sido un actor fundamental de la agroindustria, sosteniéndose con praderas naturales como el recurso más relevante. Alcanzando una superficie de 280.000ha de praderas naturales, 46.500 ha de praderas permanentes sembradas y/o mejoradas (INE, 2008), para abastecer una dotación ganadera de 108.586 cabezas de ganado bovino y 102.568 de ovinos, lo cual equivalente a 11,6% de la masa nacional. En los sectores precordilleranos la ganadería bovina posee gran relevancia. (EULA 2009).

Tabla N°4: Tabla porcentaje usos de suelo por estación de monitoreo, cuenca río Itata.

	E - 3	E - 5	E - 7	E - 8	E - 14	E - 16	E - 19	E - 20	E - 22	E - 24	E - 27
Bosque nativo	55,99	21,22	1,70	71,78	1,18	25,62	13,43	61,70	18,23	3,73	2,35
Bosque nativo/plantación		0,13				1,46			0,19	0,30	2,53
Cuerpos de agua	0,72	0,23	0,26	0,49	0,61	0,08	0,09	0,41	0,57	0,50	0,13
Humedales			0,09		0,04					0,12	
Matorrales y praderas	6,57	1,96	6,03	1,31	21,83	10,08	8,88	6,39	4,14	17,92	9,42
Nieves y glaciar	11,07	1,19		11,22				18,71			
Plantaciones Forestales	4,85	33,72	10,97	9,67	6,93	26,03	12,20	2,99	13,51	26,11	42,33
Sin vegetación	16,69	1,73	0,24	3,00	1,09			5,76		0,10	3,33
Urbano e Indus.	0,03	0,38	3,79		0,48	0,36	0,71	0,37	0,33	0,36	0,52
Agrícola	4,08	39,44	76,93	2,53	67,84	36,39	64,69	3,68	63,03	50,87	39,40

Fuente: Pozo, K. (2013).

En la tabla N°4 están representados los porcentajes de territorio en determinada estación de monitoreo y el uso de suelo correspondiente a este. Las estaciones de muestreo son agrupadas de acuerdo a como se correlacionan entre ellas, considerando los usos de suelo. Para el caso de las estaciones de monitoreo E-8, E-20 y E-3 emplazadas en zonas altas, se observa que el bosque nativo, zonas sin vegetación y nieves son los usos de suelo predominantes. En las estaciones E-24, E-7 y E-14 ubicadas en la zona media, predomina el uso agrícola y urbano industrial y en las estaciones E-27, E-16, E-5 y E-19 emplazadas en la zona media-baja de la cuenca, predominan las plantaciones forestales. (Pozo, 2013).

El sector agropecuario se desenvuelve en los territorios Secano Mediterráneo (secano costero y secano interior), Depresión Intermedia o Valle Central de Riego y Precordillera Andina (González y Villavicencio, 2018), tal como esquematiza la Figura N°9. Predominando los agricultores de tamaño pequeño, menores de 20 ha, que concentran 81,5% del total de explotaciones.

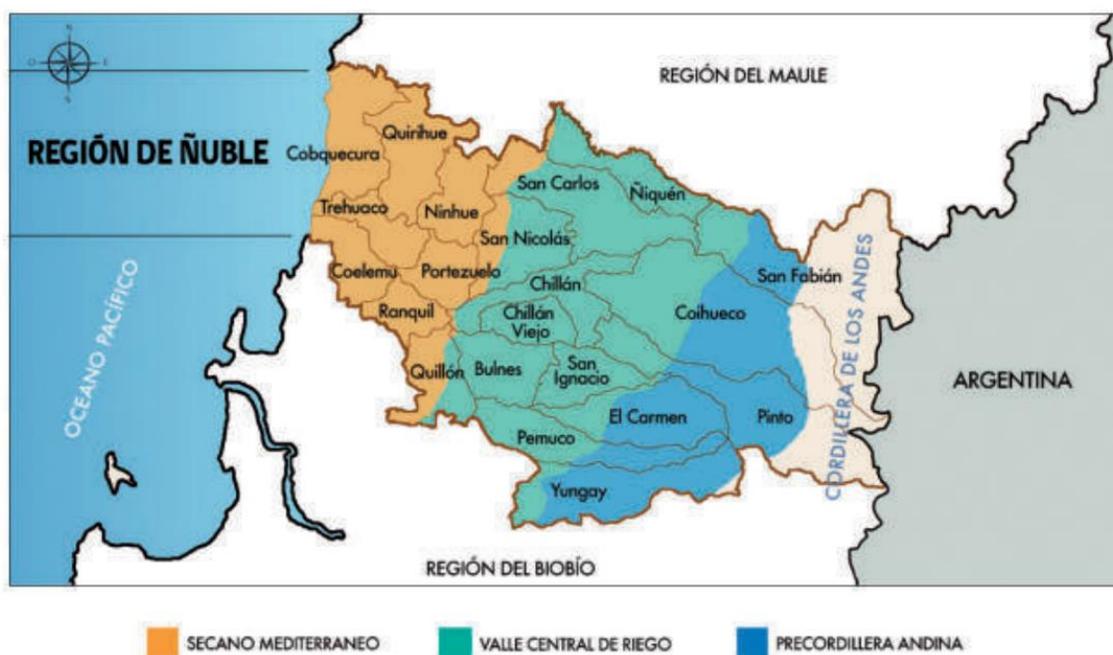


Figura N^o9: Esquema general de territorios considerados en la Región de Ñuble.

Fuente: Gonzales, G. (2020). Esquema general de territorios considerados en la Región de Ñuble.

En el territorio Secano Mediterráneo, las actividades productivas predominantes corresponden a la ganadería bovina y/u ovina, junto con el cultivo de cereales (trigo/avena), siendo la pradera natural, la base del sistema y sostén económico de los agricultores. Respecto a la región, se destina el 14,7% de la superficie total para los cultivos. La mayor parte del territorio está ocupado por pradera natural (45.888 ha), plantaciones forestales (37.252 ha), cultivos anuales y permanentes (13.573 ha), además de 10.500 ha de barbechos para cultivos anuales. (Censo Agropecuario y Forestal; INE, 2008).

Dentro del territorio Valle Central de Riego, los productores tienen a la fruticultura como el eje económico principal de sus predios, destinando 65.704 ha para cultivos anuales y permanentes y, 9.831 ha para barbechos. Respecto de la región, los agricultores poseen 53,1% de la superficie destinada a cultivos. Otro eje productivo destacado es la vitivinicultura, el territorio cuenta con viñas varietales constituyendo

un importante sector exportador a nivel nacional y de relevancia regional. (Gonzalez U., 2020). Además, destinan 125.280 ha de praderas naturales, 22.503 ha de pradera mejorada, 53.772 ha de plantaciones forestales y bosque nativo, 14.484 ha de forrajeras permanentes y de rotación. Los productores de tamaño medio a grande frecuentemente tienen cultivos industriales. Se destaca la producción de remolacha, a la cual se le destinan 9.254 ha para su cultivo, concentrando 42,7% del total de superficie nacional. (INE, 2019).

Finalmente, el territorio de Precordillera andina destaca por sus extensas áreas de bosque nativo, abarcando el 82,2% de la superficie, además de contar con 95.792 ha de plantaciones forestales. Los productores cuentan con 99.932 ha de pradera natural, 2.941 ha de pradera mejorada, 4.942 ha de forrajeras permanentes y de rotación. En cuanto a cultivos anuales y permanentes, destinan 46.063 ha para cultivos, además de 3.364 ha para barbecho. Poseen el 32,1% de la superficie destinada a cultivos a nivel regional. La pradera natural es la base de los sistemas productivos ganado-cultivo.

5.2 Bioensayos de toxicidad Crónica de las muestras sin tratamiento

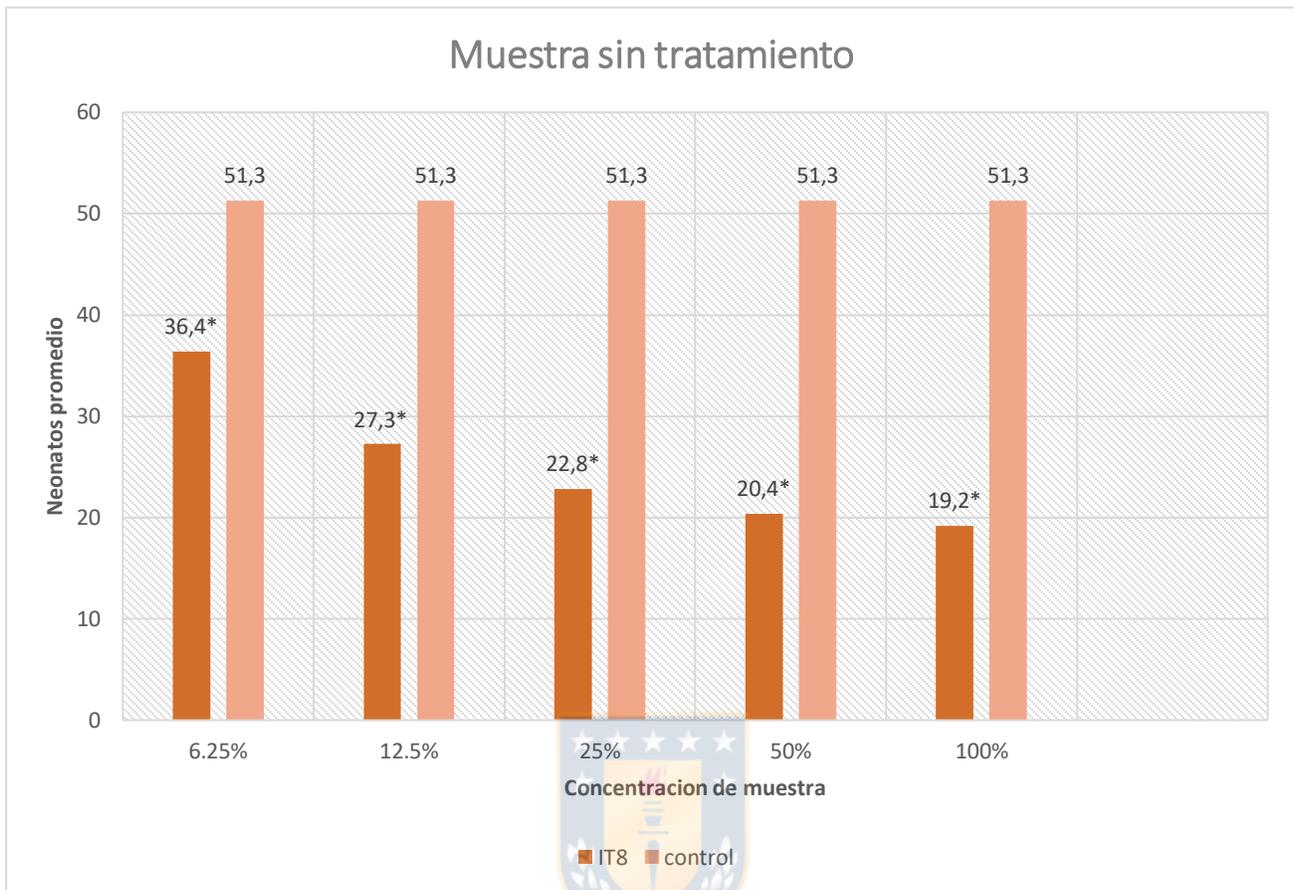
En la tabla N°5 se encuentran los datos obtenidos de monitoreos del centro EULA-Chile durante el mes de agosto del año 2021 los bioensayos aplicados en la muestra de agua sin tratamiento previo, nos indican un claro descenso en el promedio de neonatos nacidos a lo largo de los 21 días del experimento, se observa que el promedio o la media de neonatos nacidos para cada concentración de muestra (tomando en cuenta de que N=10, es decir, existen 10 réplicas para cada una de las concentraciones) va de 35 a 19, siendo estas cifras mucho menores al promedio de neonatos nacidos para el control, que en este caso corresponde a 51,3.

Tabla N°5: Estadístico descriptivo de resultados bioensayo crónico estación IT8 sin tratamiento.

Concentración	Media	N	Desv. típ.	Valor T	Valor P	%Inhibición
Control	51,3	10	2,3			
6.25%	36,4	10	2,7	-13,3*	0	29
12.5%	27,3	10	2,8	-21,4*	0	46,7
25%	22,8	10	2,4	-25,5*	0	55,6
50%	20,4	10	2,0	-27,6*	0	60,2
100%	19,2	10	2,8	-28,7*	0	62,6

*Indica que $p < 0,05$, existen diferencias significativas respecto al control

Tal como se aprecia en la tabla N°5, la columna del valor T indica que las medias de cada dilución presentan diferencias significativas respecto al control, dado a que presentan valores altos, además son cifras negativas, esto quiere decir que el valor de la media de la respectiva dilución es menor al valor del control. También se observa en la columna de valor P, que cada dilución presenta un valor P igual a 0, por lo tanto, se reafirma la existencia de diferencias significativas al ser menor a 0,05. La columna del porcentaje de inhibición nos señala en que porcentaje se redujo la reproducción de los organismos expuestos por la muestra en cada dilución, respecto del control.



* Indica $p < 0,05$, es decir, que la diferencia de medias es significativa al nivel de 0.05

Figura N°10: Resultados del bioensayo crónico estación IT8 sin tratamiento.

Fuente: Elaboración propia

La figura N°10 nos permite apreciar de manera grafica que los neonatos promedio de todas las diluciones presentan diferencias significativas respecto al control a un nivel de significancia de 0,05.

La menor concentración en la cual se observan diferencias significativas o LOAEC, para los datos de la muestra de agua superficial sin tratamiento, corresponde a 6.25%, y el NOAEC (la dilución más alta ensayada de la muestra en la cual no se aprecian diferencias estadísticamente significativas en el promedio de crías nacidas por hembra, con respecto al grupo control) es menor a 6,25%, ya que se estima que a menores diluciones podrían no existir diferencias significativas.

5.3 Bioensayos de toxicidad crónica en la muestra tras ser filtrada

Tabla N°6: Estadístico descriptivo de resultados bioensayo crónico estación IT8 tras la filtración.

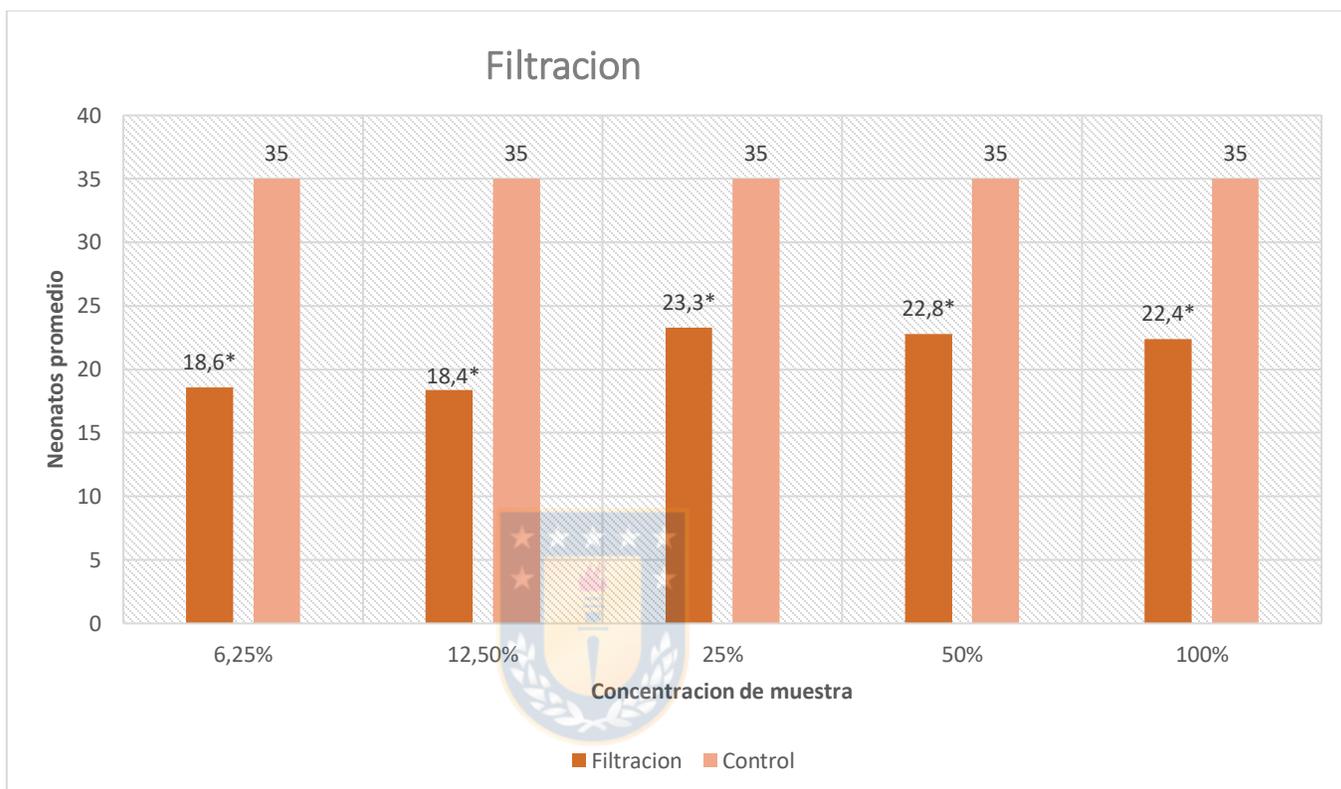
Concentración	Media	N	Desv. típ.	Valor T	Valor P	%Inhibición
Control	35,3	10	4,8			
6,25%	18,6	10	4,3	-16,7*	0	46,9
12,50%	18,4	10	6	-16,9*	0	47,4
25%	23,3	10	6,4	-12*	0	33,4
50%	22,8	10	3,3	-12,5*	0	34,9
100%	22,4	10	6	-12,9*	0	36

*Indica que $p < 0,05$, existen diferencias significativas respecto al control

Los bioensayos aplicados en la muestra de agua filtrada, demuestran un descenso en el promedio de neonatos nacidos a lo largo del experimento, el promedio de neonatos entre las concentraciones va de 18.4 a 23.3, contrastando con el control, donde se obtiene un promedio de 35 neonatos. En la dilución de 6.25% de muestra, la suma más baja registrada entre las 10 réplicas corresponde a 10 neonatos y la más alta corresponde a 24, por otro lado, la muestra más concentrada registra 13 neonatos como la suma más baja de neonatos a lo largo de las 10 réplicas, y la más alta corresponde a 32. Tal como se observa en la tabla N°6, todas las diluciones presentan diferencias significativas respecto a su control, ya que los valores T para cada dilución son altos y negativos, es decir, significativamente menor al control, además los valores p de todas las diluciones corresponden a 0.

Los porcentajes de inhibición son altos y disminuyen a medida que aumenta la concentración de muestra, siguiendo con la tendencia observada para estas

muestras, ya que la reproducción aumenta a mayor concentración, tal como se ve reflejado en la figura N°11.



* Indica $p < 0,05$, es decir, que la diferencia de medias es significativa al nivel de 0.05

Figura N°11: Resultados del bioensayo crónico estación IT8 tras filtrar.

Fuente: Elaboración propia.

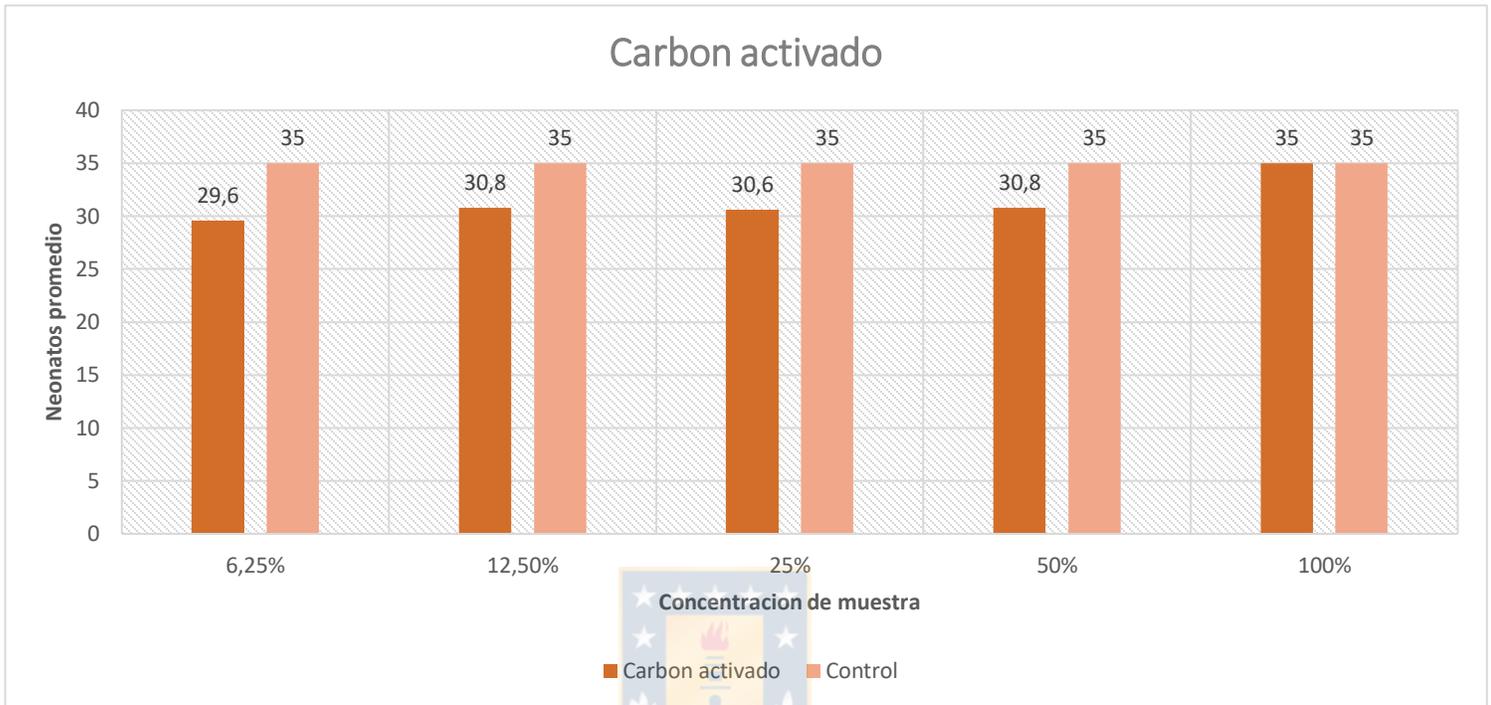
El valor de LOAEC para este caso corresponde a 6,25% y su NOAEC <6,25% al igual que las muestras sin tratamiento, por lo tanto, no se registran cambios en términos de toxicidad.

5.4 Bioensayos de toxicidad crónica con muestra tratada con carbón activo

Tabla N°7: Estadístico descriptivo de resultados bioensayo crónico estación IT8 tras el tratamiento de carbón activo.

Concentración	Media	N	Desv. típ.	Valor T	Valor P	%Inhibición
Control	35,3	10	4,8			
6,25%	29,6	10	5,4	-5,7	0,287	15,4
12,50%	30,8	10	5,8	-4,5	0,306	12
25%	30,6	10	6,9	-4,7	0,392	12,6
50%	30,8	10	8,2	-4,5	0,306	12
100%	35	10	5,3	-0,3	1	0

Los bioensayos de toxicidad crónica aplicados en la muestra de agua superficial, tras pasar por la columna de carbon activo, nos indican una leve diferencia en el promedio de neonatos nacidos entre las distintas concentraciones de muestra y el control, tal como se aprecia en la tabla N°7, las cifras son cercanas al promedio del control, ya que los valores T de las diluciones son bajos y los valores P son todos mayores a 0,05, por lo tanto, las muestras tratadas con carbon activo no registran diferencias significativas en terminos de reproduccion con los valores del control.



*indica $p < 0,05$, es decir, que hay diferencias significativas

Figura N°12: Resultados del bioensayo crónico estación IT8 tras el tratamiento de carbon activo.

Fuente: Elaboración propia.

El tratamiento con carbón activo demostró ser efectivo para reducir casi en su totalidad la toxicidad crónica de la muestra, la figura N°12, nos señala que tras este tratamiento se obtienen cifras de reproducción mas cercanas al control que con el resto de muestras. Debido a que no se observan diferencias significativas con el control, se concluye de que no existe toxicidad cronica en estas muestras, por lo tanto, no posee valores de LOAEC o NOAEC.

6. DISCUSIÓN

De acuerdo con los datos de monitoreos recientes de centro EULA-Chile en la estación IT8 del río Itata, las muestras de agua superficial del río sin tratamiento presentaron toxicidad crónica respecto a su control, registraron un LOAEC de 6,25% y un NOAEC $< 6,25\%$ (ya que se presume que, a mayores diluciones, no se observan diferencias significativas respecto al control). Podemos observar que a medida que aumenta la concentración, la reproducción disminuye, este descenso en la reproducción nos indica que la muestra resulta nociva para el ciclo de vida del organismo, demostrando su potencial nocivo en un ecosistema acuático.

Las muestras de agua fueron filtradas por medio de membranas de nitrato de celulosa con diámetro de poro de $0,45\mu\text{m}$, con el fin de descartar a las partículas sólidas suspendidas como los responsables de la toxicidad crónica detectada. Registraron un LOAEC de 6,25% y un NOAEC $< 6,25\%$, al igual que para el caso de las muestras sin fraccionar, por ende, la toxicidad se mantuvo. Esto indica que partículas de tamaños superiores a $0,45\mu\text{m}$ no corresponden a la fuente del problema, además se observa que, al contrario de las muestras sin tratar, la reproducción aumenta a medida que aumenta la concentración, esto puede deberse a la presencia de microalgas o sustancias propicias para la supervivencia del organismo que se encuentren dispersos en el medio acuático y fueron retenidos por el filtro. Por ende, al hallarse en menor concentración de muestra, el bioindicador no solo se encuentra inmerso en un medio con sustancias disueltas o de tamaño inferior a $0,45\mu\text{m}$ que resultan nocivas para su ciclo de vida, sino que, además, se encuentra en ausencia de nutrientes u otros compuestos necesarios para su supervivencia.

La filtración con el sistema de columnas de carbón activo fue el único tratamiento que permitió reducir casi en su totalidad la toxicidad crónica registrada en las muestras de agua, debido a que presentaron leves diferencias de reproducción respecto al control, las cuales no son significativas a nivel estadístico, por lo tanto, no posee valor de LOAEC o NOAEC. Se observa que la reproducción aumenta en

la medida que aumenta la concentración de la muestra. El mayor número de neonatos promedios registrados fue en la muestra más concentrada, al 100% de muestra se registran 35 neonatos promedio, al igual que en el control, sin embargo, el resto de diluciones registraron valores cercanos a 30, casi sin diferencias entre sí. Esto puede deberse a que este tratamiento eliminó los compuestos orgánicos apolares y se mantuvo la concentración de nutrientes presentes en la columna de agua.

El sistema de filtrado con columnas de carbón activo retiene los componentes mediante el proceso de adsorción, el cual consiste en la captación de sustancias presentes en una solución, mediante la estructura porosa del adsorbente, ya que, para que la acumulación por unidad de área sea alta, se prefieren los sólidos altamente porosos, con áreas internas muy grandes por unidad de volumen (Sevilla, 2011). Una sustancia polar (sustancia que es soluble en agua) no puede ser adsorbida por el adsorbente, por el contrario, una sustancia no polar es posible ser adsorbida por el adsorbente. Son capaces de retener compuestos orgánicos volátiles como el benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos, Poli-hidrocarburos aromáticos (PACs) y sustancias halogenadas como I, Br, Cl, H y F. (Metcalf y Eddy, 1995). La exposición crónica de los compuestos detectados se debe a descargas constantes de estas sustancias tóxicas en el ecosistema mediante las actividades agrícolas desarrolladas en la zona y cuanto más persistente sean, existirá mayor riesgo asociado a su uso, ya que aumenta la posibilidad que se movilice en el ambiente y que interactúe con los organismos antes de degradarse, como por ejemplo los plaguicidas organoclorados. En múltiples estudios, donde han analizado muestras de agua superficial provenientes del río Ñuble y Chillan (Cooman et al., 2005; Henríquez et al., 2006; Montory et al., 2017), se han detectado compuestos que, de acuerdo con Sevilla (2011), poseen altas probabilidades de ser adsorbidos por el carbón activo como el; heptacloro, lindano, edosulfan, endrin, metoxicloro, atrazina, dieldrin, DDE, DDT, aldrina y HCH.

Por lo tanto, es muy probable que la toxicidad crónica fuese eliminada tras el tratamiento con carbón activo, debido a que este retuvo los compuestos orgánicos apolares presentes en los plaguicidas de la muestra de agua. El río Itata se encuentra expuesto a múltiples focos de contaminación, debido a las actividades agrícolas desarrolladas en la región de Ñuble, la estación de donde se obtuvieron las muestras (IT-8), se emplaza entre la desembocadura del río Itata y la confluencia con el río Ñuble, en la comuna de Ranquil, provincia del Itata. Ranquil es una de las comunas con mayor población rural y está fuertemente ligada al sector agropecuario, se caracteriza por la presencia de plantaciones forestales artificiales con fines comerciales de especies como el pino y eucalipto, además de policultivos o frutales y vegetación de lomas en menor medida. (SIT, 2019).

De acuerdo con la información obtenida del sistema de información territorial (SIT) CONAF (2019), la superficie total comunal corresponde a 24.774,8 HA, aproximadamente la mitad del uso de suelo del territorio, es decir, un 46% del total es destinado para plantaciones, el 23% para terrenos agrícolas, el 6,6% para plantaciones exóticas, 6,3% para bosque mixto y solo un 3% para bosque nativo, el resto se distribuye en áreas urbanas e industriales, cuerpos de agua, áreas sin vegetación y humedales, tal como se aprecia en la figura N°13.

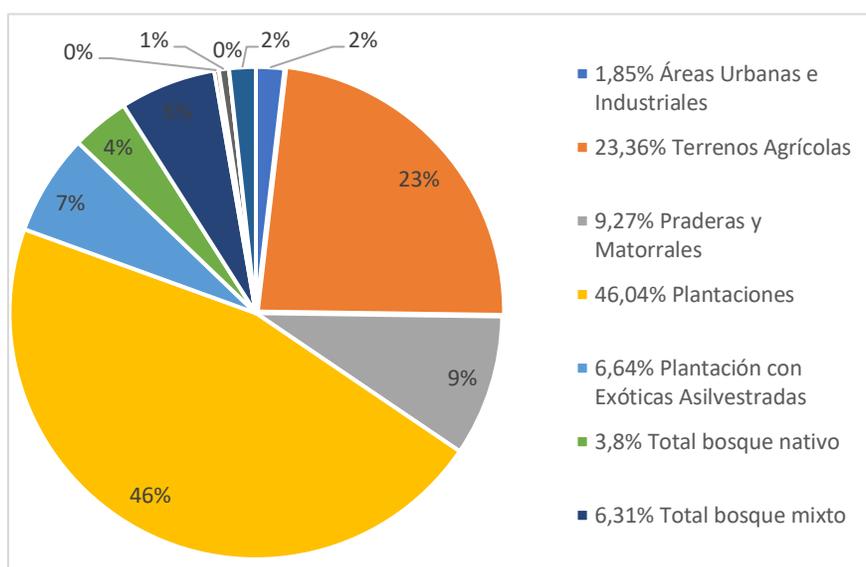


Figura N°13: distribución de uso de suelos, comuna de Ranquil.

Fuente: Elaboración propia.

Las actividades agrícolas en la región de ñuble emplean grandes cantidades de pesticidas, para el año 2019 se comercializaron 1.748.408,8 kg de pesticidas, siendo los ingredientes activos con mayores ventas: el metam-sodio, glifosfato-potasio, aceite parafínico, glifosato-isopropolamonio, hidróxido de cobre, simazina, mcpa-dimetilamonio, azufre, dicloruro de paraquat, clorpirifos, pendimetalina, dodina, cianamida hidrogenada, oxifluorfenó y dimetilamonio. (SAG, 2019).

El Río Itata nace en la confluencia de los ríos Cholguán y Huépil, va captando los aportes de múltiples ríos como lo son Danicalqui, Diguillín, Larqui y Ñuble, además recibe las aguas de los ríos Los sauces, Cato y Chillan. Por lo tanto, existen múltiples focos de distribución de plaguicidas, ya que estos compuestos son arrastrados por la corriente y trasladados a zonas lejanas por medio del sistema hídrico.

Existen múltiples mecanismos de transporte que propician el ingreso de estos componentes a la columna de agua, por ejemplo, un plaguicida líquido altamente volátil tiende a aumentar su movilidad atmosférica (Madhun & Freed, 1990), por lo tanto son capaces de volatizarse, siendo transportado por acción del viento y depositados mediante la condensación y posterior precipitación, en organismos u otros compartimientos ambientales que se encuentren lejanos al punto de aplicación. (Flores et al., 2012). La dispersión de los compuestos orgánicos apolares implica su afinidad por los tejidos lipofílicos, materia orgánica y sedimentos presentes en la columna de agua (Madhun y Freed, 1990), por lo tanto, los plaguicidas aplicados en los cultivos se adhieren a las partículas suspendidas y sedimentos presentes en la superficie terrestre y son movilizados hasta fuentes de agua lejanas mediante la escorrentía y riego. Cuando los plaguicidas son persistentes o permanentes, con cada aplicación se agregan al ambiente nuevos contaminantes que requerirán años ser degradados, por lo tanto, los suelos y sedimentos quedan contaminados por muchos años y son transportados a sitios

lejanos producto del arrastre. De esta forma podría generar una contaminación irreversible de los suelos y manto freático en zonas donde el agua para consumo humano se obtiene de pozos. (Montory et al., 2017). El mal manejo de los plaguicidas, vertimientos accidentales o condiciones y metodologías de aplicación obsoletas influyen en que las aplicaciones no logren ser eficientes, de alta calidad o confiabilidad, además las cantidades de compuestos empleados suelen ser muy altos, propiciando un mayor nivel de contaminación. (Hetz & Brevis, 2010).

El clima pudo ser otro factor que influyera en los resultados, debido a los hallazgos de Cooman et al., 2005, donde se detectó toxicidad crónica para la *Daphnia magna*, en muestras obtenidas del río Chillan durante el invierno, producto de la presencia de pesticidas en bajos niveles (atrazina, clorpirifos, heptacloro, endrin, endosulfan y metoxicloro). Concluyen en que estos compuestos se adhieren a las partículas suspendidas y producto de las precipitaciones y aumento de caudal propio del invierno, propicia su detección, ya que estas partículas emergen a la superficie. Las muestras de agua fueron obtenidas durante julio, por lo tanto, el clima propio de los meses de invierno propicio la captación de muestras contaminadas con pesticidas. Se estima que de realizar los muestreos en época de verano posiblemente no se habría detectado toxicidad crónica en concentraciones de muestra tan baja. Por otro lado, la filtración no logro reducir la toxicidad crónica de las muestras, los filtros con membranas de celulosa permiten remover partículas suspendidas, células, hongos, levaduras y bacterias (Pearce, 2007) cuyos tamaños sean mayores a los 0,45 μm , esto indica que no fueron estos los causantes de la toxicidad crónica, o bien, las partículas responsables de los efectos nocivos son de tamaño inferior a los 0,45 μm . Tampoco se descartan errores operacionales que provocaran que el filtro se saturase de partículas y, por lo tanto, el proceso de filtración no se efectuara correctamente.

En otras investigaciones llevadas a cabo por Montory et al, (2017), se ha demostrado la presencia de pesticidas organoclorados como heptacloro, lindano, edosulfan, aldrina y HCH (compuestos que pueden ser altamente retenidos por el

carbón activo) en muestras de agua provenientes del río Ñuble, uno de los principales tributarios que ingresan al río Itata, dado que la estación de monitoreo se encuentra después de la confluencia de ambos ríos, los resultados pudieron verse fuertemente influenciados por contaminación proveniente del río Ñuble. En otros sectores como la zona urbana de Chillan, se han detectado altas concentraciones de Hidrocarburos totales y plaguicidas como Aldrin, DDT, Dieldrin y DDE en muestras de suelo obtenidas en el sector intermedio del río Ñuble y río Chillan, los hidrocarburos se explican debido a la presencia de talleres mecánicos y distribuidoras de gasolina; pero los pesticidas provienen de zonas de uso agrícola cercanas a las riberas del río Chillan y río Ñuble, ya que se extrajo material procedente de dichas zonas para rellenar pavimentos y zonas menos rurales (Henríquez et al., 2006). Tanto los hidrocarburos como los pesticidas ya mencionados poseen altas probabilidades de ser retenidos por el carbón activo.

Cuanto más persistente sea un compuesto, mayor será el riesgo asociado a su uso, ya que genera mayor movilidad en el medio ambiente, mayor interacción con los organismos antes de ser degradado y lo hace resistente a mecanismos naturales de transformación y degradación. La transformación en el ambiente radica en que muchos compuestos se pueden transformar en él, dando lugar a sustancias más tóxicas y persistentes que las originales. La bioconcentración es otro fenómeno asociado al uso de los plaguicidas, ya que los organismos toman del medio sustancias nutritivas y las almacena en sus tejidos, al estar expuesto a sustancias nocivas por largos periodos, se pueden acumular, incrementando su concentración en función del tiempo. Esto da lugar a que algunas sustancias aumenten su concentración de manera progresiva a lo largo de las cadenas tróficas. Se estima que el 90% de los pesticidas usados en actividades agrícolas, no llega al organismo objetivo, sin embargo, es dispersado a través de los compartimientos ambientales como el aire, suelo y agua (Moses, 1993). Los plaguicidas poseen características que les permiten ser movilizados entre los compartimientos ambientales. Los compuestos líquidos altamente volátiles se relacionan con la movilidad atmosférica

(Madhun y Freed, 1990), ya que al volatizarse logran ser trasladados en la atmosfera por acción del viento. La baja solubilidad de estos compuestos depende de su polaridad, ya que las sustancias apolares se concentran en la interfase aire-agua y partículas sólidas suspendidas. De esta forma ocurre la adsorción del compuesto por la materia orgánica y sedimentos de la columna de agua. Además, poseen afinidad con el material lipofílico en los organismos, dando lugar a los fenómenos de bioconcentración y biomagnificación (Botello, 2005). Por lo tanto, los plaguicidas aplicados en esta zona, podrían estar aumentando en concentración de manera progresiva a lo largo de las cadenas tróficas, afectando considerablemente a los niveles tróficos elevados, de esta forma se contaminan los alimentos y eventualmente a los seres humanos (Tulp & Hutzinger, 1978; Chiou, 1985).

Por lo tanto, los sedimentos y la biota acuática a lo largo de la región de Ñuble podrían contener altas concentraciones de estos compuestos, los cuales son dispersados en la atmosfera por acción del viento y la propia corriente del sistema hídrico, además de la migración de peces u otras especies acuáticas que permiten el ingreso de los compuestos a distintos niveles de la cadena trófica, tanto en el ecosistema acuático como terrestre.

Dado que el río Itata desemboca en la costa, los contaminantes logran llegar a zonas costeras para distribuirse en la columna de agua y sedimentos del fondo, cuando el agua dulce se mezcla con agua marina se genera la sedimentación de la materia orgánica, nutrientes y sustancias provenientes de los ríos, de esta manera los plaguicidas precipitan y pasan al fondo marino (Botello, 2005). Una vez ingresados al ecosistema marino logran ser acarreados a grandes distancias por las corrientes y mareas, de igual manera los organismos que acumulan estas sustancias en sus tejidos son capaces de transportarlas a otras regiones durante sus desplazamientos migratorios. Es por ello que la problemática respecto a la toxicidad de las muestras adquiere un carácter global, ya que podría afectar a todo el ecosistema marino y eventualmente a la población humana. Si bien las metodologías de fraccionamientos utilizadas en el presente estudio no permiten identificar que

compuestos específicamente generan toxicidad crónica, indican en donde centrar la atención para futuras investigaciones más especializadas y planificar proyectos de descontaminación de aguas, ya que identifican que tipos de compuestos son los responsables de los efectos nocivos en base a sus características físico-químicas, por lo tanto, se requerirá estudios que evalúen e identifiquen los compuestos y sus concentraciones en el agua, sedimentos y biota.

7. CONCLUSIONES

Los bioensayos de toxicidad crónica demostraron que la filtración por carbón activo redujo prácticamente en su totalidad la toxicidad crónica detectada en las muestras de la estación It-8, obtenidas en el río Itata.

A partir de la metodología de los fraccionamientos, se pudo identificar a los compuestos orgánicos apolares, como los compuestos con más posibilidades de ser los responsables de la toxicidad crónica registrada en las aguas del río Itata, procedentes de las actividades agropecuarias presentes en la zona.

La toxicidad esta posiblemente vinculada a partículas de tamaños menores a 0,45 μm , debido a que la filtración por membranas de celulosa de diámetro de poro de 0,45 μm , no logró reducir la toxicidad crónica registrada.

Las actividades agropecuarias dentro de la región de Ñuble, utilizan grandes cantidades de plaguicidas para controlar distintos organismos que intervienen en la producción, muchas veces se aplican en altas tasas con metodologías deficientes, esto sumado a las características de los plaguicidas, propicia su transporte a diferentes zonas por medio de los compartimientos ambientales.

Se necesitan estudios especializados que permitan identificar y cuantificar los componentes responsables de la toxicidad detectada, tanto en la columna de agua, como en sedimentos y biota.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Air, W., Chamorro, S., & Vidal, G. (2008). *Characterization of E1 Kraft Mill Effluent by Toxicity Identification Evaluation Characterization of E1 Kraft Mill Effluent by Toxicity Identification Evaluation Methodology*. May. <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9870-1>.
2. Anze, R., Franken, M., Zaballa, M., Pinto, M. R., Zeballos, G., Cuadros, M. D. L. Á., Canseco, Á., Rocha, A. De, Estellano, V. H., & Granado, S. Del. (2007). Bioindicadores en la detección de la contaminación atmosférica en Bolivia. *Revista Virtual REDESMA*, 53–74.
3. Auge, M. (2007). Agua fuente de vida, abastecimiento de agua. *Salud Mundial*, 31. <http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/miguel/AguaFuenteVida.pdf>.
4. Bertin, A., Damiens, G., Castillo, D., Figueroa, R., Minier, C., & Gouin, N. (2020). Developmental instability is associated with estrogenic endocrine disruption in the Chilean native fish species, *Trichomycterus areolatus*. *Science of the Total Environment*, 714, 136638. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136638>.
5. Besser, J. M., Ingersoll, C. G., Leonard, E. N., & Mount, D. R. (1998). Effect of zeolite on toxicity of ammonia in freshwater sediments: Implications for toxicity identification evaluation procedures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(11), 2310–2317. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/etc.5620171123>.
6. Botello, A. V. (2005). *Golfo de México: contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. Universidad Autónoma de Campeche, Centro de Ecología, Pesqueras y Oceanografía del Golfo de México. <https://books.google.es/books?id=WwuryOF1jUEC>.
7. Budi, S., Suliasih, B. A., Othman, M. S., Heng, L. Y., & Surif, S. (2016). Toxicity identification evaluation of landfill leachate using fish, prawn and seed plant. *Waste Management*, 55, 231–237. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.09.022>.

8. Cade-Idepe. (2004). *Cuenca del rio itata*. 127.
9. Chiou,C.,(1985). Partition coefficients of organic compounds in lipid-water systems and correlation with fish bioconcentration factor. *Environ.Sci.Technol.*,19:57-62.
10. Cooman, K., Debels, P., Gajardo, M., Urrutia, R., & Barra, R. (2005). Use of *Daphnia* spp. for the ecotoxicological assessment of water quality in an agricultural watershed in South-Central Chile. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(2), 191–200. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-0218-6>.
11. Escobar, J. (2002). Recursos Naturales E Infraestructura La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y el mar. In *Ingeniare Revista chilena de ingenier* (Vol. 17, Issue 3). <http://www.eclac.org/publicaciones/xml/9/19539/lcl2169e.pdf>.
12. Figueroa, R., Palma, A., Ruiz, V., Niell, X., (2007). Comparative analysis of biotic indexes used to evaluate water quality in a Mediterranean river of Chile: Chillan River, VIII Region. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 80, 225–242.
13. Flores, H., Arumí, J.L., Rivera, D., Lagos, L.O., (2012). A simple method to identify areas of environmental risk due to manure application. *Environ. Monit. Assess.* 184 (6), 3915e3928.
14. Garc, M. (2009). Capitulo 3: Contaminacion del agua. *Biología y Geología*.
15. Gonzalez, S. (2007). Contaminación Difusa De Las Aguas Continentales. *Agricultura Limpia, figura 2*, 10–17.
16. Gonzalez U., J. A. (2020). *AGRICULTURA DE LA NUEVA REGIÓN DE ÑUBLE: UNA CARACTERIZACIÓN SECTORIAL Antecedentes generales, económicos y agrícolas de la nueva Región de Ñuble*. <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/3623>.
17. Hanazato, T. (1999). Anthropogenic chemicals (insecticides) disturb natural organic chemical communication in the plankton community. *Environmental Pollution*, 105(1), 137–142. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(98\)00203-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(98)00203-6)
18. Hashiguchi, Y., Zakaria, M. R., Maeda, T., Yusoff, M. Z. M., Hassan, M. A., &

- Shirai, Y. (2020). Toxicity identification and evaluation of palm oil mill effluent and its effects on the planktonic crustacean *Daphnia magna*. *Science of the Total Environment*, 710, 136277. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136277>.
19. Henríquez, M., Becerra, J., Barra, R., & Rojas, J. (2006). Hydrocarbons and organochlorine pesticides in soils of the Urban ecosystem of Chillán and Chillán Viejo, Chile. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 51(3), 0–6. <https://doi.org/10.4067/s0717-97072006000300002>.
20. Hetz, E., & Brevis, M. (2010). *CONDICIONES EN QUE SE APLICAN LOS PLAGUICIDAS EN HUERTOS DE ARANDANO (VACCINIUM SPP .) DE LA PROVINCIA DE* *CONDITIONS OF PESTICIDE APPLICATION ON BLUEBERRY ORCHARDS (VACCINIUM SPP .) IN THE PROVINCE OF ÑUBLE , CHILE*. 26(1), 62–65.
21. Hongxia, Y., Jing, C., Yuxia, C., Huihua, S., Zhonghai, D., & Hongjun, J. (2004). Application of toxicity identification evaluation procedures on wastewaters and sludge from a municipal sewage treatment works with industrial inputs. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57(3), 426–430. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.08.024>.
22. Jin, H., Yang, X., Yu, H., & Yin, D. (1999). Identification of ammonia and volatile phenols as primary toxicants in a coal gasification effluent. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63(3), 399–406. <https://doi.org/10.1007/s001289900994>.
23. Madhun, Y.A., & V.H. Freed, (1990). Impact of pesticides on the environment, p.429-a66. In: F.L. McEwen and G.R. Stephenson. Pesticides in the soil environment. Soil Science Society of America. Book Series #2. USA.
24. Marisol, C., & Rebolledo, B. (2017). *Identificación y Evaluación de la Toxicidad (TIE) de drenaje ácido de mina , mediante bioindicadores de calidad de agua*.
25. Metcalf and Eddy. (1995). *Ingeniería de aguas residuales. Volumen 1: Tratamiento, vertido y reutilización*.

26. Montory, M., Grimalt, J. O., Ferrer, J., & Villouta, M. V. (2017). First report on organochlorine pesticides in water in a highly productive agro-industrial basin of the Central Valley, Chile. *Chemosphere*, 174, 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.125>.
27. Moses, M., Johnson, E. S., Anger, W. K., Burse, V. W., Horstman, S. W., Jackson, R. J., Lewis, R. G., Maddy, K. T., McConnell, R., & Meggs, W. J. (1993). Environmental equity and pesticide exposure. *Toxicology and Industrial Health*, 9(5), 913–959. <https://doi.org/10.1177/074823379300900512>.
28. Mount, D. R., & Hockett, J. R. (2000). Use of toxicity identification evaluation methods to characterize, identify, and confirm hexavalent chromium toxicity in an industrial effluent. *Water Research*, 34(4), 1379–1385. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00271-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00271-7).
29. Norberg-King, T. J., Mount, D. I., Amato, J. R., Jensen, D. A., & Thompson, J. A. (1992). *Characterization of Chronically Toxic Effluents, Phase I*.
30. Olmstead, A. W., & LeBlanc, G. A. (2000). Effects of endocrine-active chemicals on the development of sex characteristics of *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(8), 2107–2113. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/etc.5620190821>.
31. Ongley, E. D. (1997). *Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los Recursos Hídricos. (Estudio FAO Riego y Drenaje - 55)*. <http://www.fao.org/3/w2598s/w2598s03.htm>.
32. Pearce, G. (2007). Introduction to membranas: Filtration for water and wastewater treatment. *Filtration & Separation*. Vol 44(2):24-27.
33. Pozo, K. P. (2013). Propuesta de elaboración de un plan de vigilancia para la Norma Secundaria de Calidad Ambiental para la cuenca del río Itata, Región del Biobío. *Sustainability, Agri, Food and Environmental Research*, 1(2), 36–52. <https://doi.org/10.7770/safer-v1n2-art771>.
34. Quezada, F. S. (2017). El cambio climático y los recursos hídricos de Chile. *Agricultura Chilena, Reflexiones y Desafíos Al 2030*, 11, 147–178.

<https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2018/01/cambioClim12parte.pdf>.

35. Ra, J. S., Jeong, T. Y., Lee, S. H., & Kim, S. D. (2016). Application of toxicity identification evaluation procedure to toxic industrial effluent in South Korea. *Chemosphere*, 143, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.05.004>.
36. Rozas, E. (2019). *INFORME SOBRE LA SITUACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS ALTAMENTE PELIGROSOS (PAP) EN CHILE*. 53(9).
37. SEVILLA, U. (2011). Manual Del Carbón Activo. *Aula.Aguapedia.Org*, 1–89. [http://aula.aguapedia.org/pluginfile.php/10339/mod_resource/content/1/CARBON_ACTIVADO_DEFINITIVO tar.pdf](http://aula.aguapedia.org/pluginfile.php/10339/mod_resource/content/1/CARBON_ACTIVADO_DEFINITIVO_tar.pdf).
38. S.A.G. (Servicio Agrícola y Ganadero). (2019). Informe de venta de plaguicidas de uso agrícola en Chile (Report on sales of pesticides for agricultural use in Chile). http://www.sag.cl/sites/default/files/declaracion_de_venta_de_plaguicidas_a_no_2012.pdf.
39. Tulp, M., & O.Hutzinger, (1978). Some thoughts on aqueous solubility and partition coefficients of PBC, and the mathematical between bioaccumulation and physico-chemical. *Chemosphere*, t:849-860.
40. USEPA, (1991). Development of water quality-based permit limitations for toxic pollutants: national policy. *US Fed. Reg.* 49, 9016–9019.
41. Villamar, C. A., Silva, J., Bay-schmith, E., & Vidal, G. (2014). Toxicity identification evaluation of anaerobically treated swine slurry : A comparison between *Daphnia magna* and *Raphanus sativus*. 1234. <https://doi.org/10.1080/03601234.2014.938560>.

