

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA AGRÍCOLA



**ANÁLISIS DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA Y EL SUELO
DEL TRANQUE SITUADO EN EL CAMPUS CHILLÁN DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN, REGIÓN DEL ÑUBLE, CHILE**

PATRICIA ANDREA OYARCE ARCE

HABILITACIÓN PROFESIONAL
PRESENTADA A LA FACULTAD DE
INGENIERÍA AGRÍCOLA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN,
PARA OPTAR A TÍTULO DE
INGENIERO AMBIENTAL

CHILLÁN-CHILE

2025

**ANÁLISIS DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA Y EL SUELO
DEL TRANQUE SITUADO EN EL CAMPUS CHILLÁN DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN, REGIÓN DEL ÑUBLE, CHILE**

Aprobado por:

Pedro Miguel Aqueveque Muñoz
Profesor de Biología. Dr.
Profesor Asociado

Profesor Guía

Luis Antonio Seminario Salas
Ingeniero en Industrias Alimentarias, Mg.
Profesor Asistente

Profesor Asesor

Héctor Andrés Valenzuela Bravo
Ingeniero Ambiental, Mg. (c)
Evaluador Externo

Profesor Asesor

Juan Antonio Cañumir Veas
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.
Profesor Asociado

Director de Departamento

Luis Octavio Lagos
Ingeniero Civil Agrícola. Ph.D
Profesor Asociado

Decano

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a familia, que siempre confiaron en mí y que quisieron un mejor futuro para mí. A mi mamá, que siempre se preocupó de que rindiera bien académicamente dándome las mejores oportunidades y herramientas para hacerlo, y siempre demostrando su amor y esfuerzo no solamente hacia mí sino a todas mis hermanas. A mi papá, agradecer por todos sus consejos en base a su experiencia, nutriéndome de su conocimiento y vivencias, gracias por darme todas las herramientas para poder estudiar. Agradecer a mis tíos Andrés y Nicole, y mis abuelos que siempre me apoyaron todo y estuvieron presentes, aunque no viva con ellos, gracias por ser un pilar fundamental para mis estudios.

Agradezco a mis compañeras de universidad, Ara, Pili y Clau, por todas esas juntas de estudio por internet, gracias por todas las risas y momentos felices y tristes compartidos, mi grupito que no escogí, sino que solo se dio, me enseñaron que entre compañeras no existe la competencia.

Agradezco a mi pareja Alejandro Aqueveque, que fue un apoyo fundamental en este proceso y en la universidad, gracias por siempre estar a mi lado y enseñarme a mirar las cosas desde otro punto de vista cuando sentía que no estaba rindiendo bien, gracias por sacarme de mis pensamientos oscuros y ayudarme a ver la vida de una forma más fácil a través de tus palabras y tu amor.

Quiero agradecer a mis profesores Pedro Aqueveque y Héctor, por su constante apoyo, guía y dedicación a lo largo del proceso. Su compromiso con

la enseñanza y su disposición para compartir sus conocimientos no solo enriquecieron mi trabajo, sino también mi formación académica y personal.

ÍNDICE

Página

RESUMEN.....	1
SUMMARY	3
1. INTRODUCCIÓN	5
2. ANTECEDENTES GENERALES	6
3. HIPÓTESIS	10
4. OBJETIVOS	11
4.1. Objetivo general.....	11
4.2. Objetivos específicos	11
5. METODOLOGÍA.....	11
5.1. Área de estudio.....	11
5.2. Recolección de muestras.....	13
5.3. Análisis Microbiológico.....	14
5.4. Parámetros Físicoquímicos.....	24
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
6.1. Resultados Análisis Microbiológicos	25
6.2. Base para un futuro estudio de Declaración como Humedal Urbano	46
7. CONCLUSIONES.....	50
8. BIBLIOGRAFÍA	51
9. ANEXOS	55

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Volúmenes de muestra de agua, concentración de medios y tubos inoculados.....	17
Tabla 2. Resultados del análisis microbiológico de las muestras del tranque “Embalse 3”	25
Tabla 3. Resultados del análisis fisicoquímico del tranque “Embalse 3”.....	31
Tabla 4. Diversidad y distribución de géneros de hongos identificados en suelo y agua del tranque.....	39
Tabla 5. Resultados de las enterobacterias de suelo (UFC/g)	44

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Imagen satelital en Qgis que indica la ubicación del tranque, Chillán, región de Ñuble, Chile	12
Figura 2. Puntos seleccionados para muestreo del tranque, ubicado en el Campus Chillán de la Universidad De Concepción, Chillán, región de Ñuble, Chile	12
Figura 3. Resultados positivos para Coliformes totales en medio BVB y Coliformes Fecales en medio EC, respectivamente	18
Figura 4. Tres resultados positivos para <i>E. coli</i> en medio agar Levine.	19
Figura 5. Cinco resultados negativos para <i>Salmonella</i> en medio Agar XLD.19	
Figura 6. Equipo filtrador por membranas	20
Figura 7. Filtros de membranas para agua.....	21
Figura 8. Siembra de filtros de agua para la obtención de hongos	21
Figura 9. Resultado de Coliformes Fecales (CF) en muestras de agua del tranque “Embalse 3” en el periodo de estudio.....	28
Figura 10. Resultado de <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) en muestras de agua del tranque “Embalse 3” en el periodo de estudio.....	30
Figura 11. Representación gráfica de las mediciones de conductividad, temperatura, TDS, pH y turbidez.....	32

Figura 12. Concentración de coliformes fecales (NMP/100 ml) del tranque “Embalse 3” y su relación con la conductividad eléctrica (us/cm) en el agua.....	33
Figura 13. Concentración de <i>E. coli</i> del tranque “Embalse 3” y su relación con el pH en el agua.....	34
Figura 14. Concentración de coliformes fecales y <i>E. coli</i> del tranque “Embalse 3” y su relación con los TDS en el agua.....	35
Figura 15. Concentración de coliformes fecales del tranque “Embalse 3” y su relación con la turbidez en el agua.....	36
Figura 16. Concentración de coliformes fecales del tranque “Embalse 3” y su relación con la temperatura en el agua.....	37
Figura 17. Registro de cepas de hongos encontrados en muestras de agua y suelo del tranque ubicado en el Campus Chillán de la Universidad de Concepción.....	39
Figura 18. Recuento de las enterobacterias de suelo.....	44
En el anexo	
Figura 1. Registro del muestreo de agua y suelo del tranque en agosto.....	55
Figura 2. Registro del muestreo de agua y suelo del tranque en septiembre...55	
Figura 3. Registro del muestreo de agua y suelo del tranque en noviembre...56	
Figura 4. Registro del muestreo de agua y suelo del tranque en diciembre....56	
Figura 5. Compuerta de agua procedente del Canal de la Luz, con destino al tranque (imagen 1: compuerta; imagen 2: destino).....	57

Figura 6. Presencia de fauna acuática en el tranque.....	57
Figura 7. Avistamiento de aves cazando en el tranque.....	58
Figura 8. Presencia de vegetación ribereña alrededor del tranque.....	58
Figura 9. Contaminación por desechos sólidos alrededor del tranque.....	59
Figura 10. Registro de hongos encontrados en agua y suelo del tranque en septiembre y octubre.....	60
Figura 11. Registro de hongos encontrados en agua y suelo del tranque en septiembre y octubre.....	61
Tabla 1. Registros de precipitaciones de la dirección meteorológica de Chile (DCM).....	59

ÍNDICE DE ECUACIÓN

	Página
Ecuación 1. Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g).	23

**ANÁLISIS DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA Y EL SUELO
DEL TRANQUE SITUADO EN EL CAMPUS CHILLÁN DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN, REGIÓN DEL ÑUBLE, CHILE**

EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL QUALITY, PHYSICOCHEMICAL
PARAMETERS, AND POTENCIAL AS AN URBAN WETLAND SYSTEM OF
THE “RESERVOIR” POND IN THE CITY OF CHILLAN, ÑUBLE REGION,
CHILE

PALABRAS CLAVES: Calidad microbiológica, agua, suelo, Coliformes Totales, Coliformes Fecales, *Escherichia coli* y Tranque.

RESUMEN

La presente tesis analizó la calidad microbiológica del agua y suelo del tranque “Embalse 3”, enfocándose en la presencia de microorganismos contaminantes y el comportamiento de hongos en ambos medios. Para evaluar la calidad del agua, se complementaron parámetros microbiológicos con parámetros fisicoquímicos como el pH, la temperatura, conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos (TDS) y turbidez. Se analizaron muestras de agua y suelo. Mediante la técnica del Número Más Probable (NMP), se detectaron Coliformes Totales, Coliformes Fecales, *Escherichia coli* y *Salmonella* en agua. En suelo, con la técnica de Recuento en Placa, se analizaron Coliformes Totales, Coliformes Fecales, *Escherichia coli*, *Salmonella* y Enterobacterias. El análisis microbiológico confirmó la presencia de Coliformes Totales, Coliformes Fecales y *E. coli* en agua, y Coliformes Totales en suelo. Se registraron hongos en agua mediante la técnica de Iqbal y Webster (1973) y

en suelo por diluciones seriadas. Se observó persistencia de *Penicillium* y *Trichoderma* en suelo, y presencia de *Cladosporium* en ambos medios. El muestreo se realizó de agosto a diciembre de 2024. Los resultados indicaron que el tranque cumple con la normativa ambiental chilena, aunque la presencia de Coliformes Fecales en agua sugiere la necesidad de un monitoreo continuo.

**MICROBIOLOGICAL QUALITY ASSESSMENT OF WATER AND SOIL IN
THE RESERVOIR LOCATED ON THE CHILLÁN CAMPUS OF THE
UNIVERSITY OF CONCEPCIÓN, ÑUBLE REGION, CHILE**

KEY WORDS: Microbiological quality, water, soil, Coliforms and *Escherichia coli*.

SUMMARY

The present thesis analyzes the microbiological quality of water and soil in the “Embalse 3” reservoir, focusing on the presence of contaminant microorganisms and the behavior of fungi in both environments. To assess water quality, microbiological parameters were complemented with physicochemical parameters such as pH, temperature, electrical conductivity, total dissolved solids (TDS), and turbidity. Water and soil samples were analyzed. Using the Most Probable Number (MPN) technique, Total Coliforms, Fecal Coliforms, *Escherichia coli*, and *Salmonella* were detected in water. In soil, the Plate Count technique identified Total Coliforms, Fecal Coliforms, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella*, and Enterobacteria. Microbiological analysis confirmed the presence of Total Coliforms, Fecal Coliforms, and *E. coli* in water, as well as Total Coliforms in soil. Fungi were recorded in water using the technique described by Iqbal and Webster (1973) and in soil through serial dilutions. *Trichoderma* and *Penicillium* showed temporal persistence, while *Aspergillus* were present in both environments. Sampling was conducted from August to December 2024. The results indicated that the reservoir complies

with Chilean environmental regulations; however, the presence of Fecal Coliforms in water suggests the need for continuous monitoring.

1. INTRODUCCIÓN

El agua, que constituye el 80% de la mayoría de los organismos, es clave para sus procesos metabólicos, la fotosíntesis de las plantas y como hábitat de los seres vivos. Para los humanos, además de consumirla, es indispensable en diversas actividades diarias (Instituto Nacional de Salud Pública, 2020).

Una de las causas de pérdida de calidad del agua es la infiltración de heces, en ríos, pozos, tranques, debido a aguas residuales sin tratamiento o lluvias intensas. *Escherichia coli* y *Salmonella* del grupo de coliformes fecales no se encuentra naturalmente en el ambiente, por lo que es un indicador de contaminación fecal y de posible presencia de patógenos causando enfermedades gastrointestinales (Carbotecnia, 2021).

Escherichia coli (*E. coli*), es un bacilo Gram negativo, móvil no esporulado, de pequeño tamaño, suele encontrarse de forma aislada y crece a una temperatura óptima de 35 a 37°C. Tiene flagelos peritricos distribuidos alrededor de la célula y puede formar cápsula dependiendo de la cepa. Es anaerobio facultativo lo que le permite sobrevivir en diversos ambientes, como el tracto intestinal de mamíferos o en el agua (Bonilla, s.f).

En este contexto, los hongos presentes en ambientes contaminados descomponen materia orgánica interactuando con bacterias. Además, son beneficiosos porque aportan nutrientes al suelo, forman simbiosis con plantas y actúan como bioindicadores (MMA, 2022).

Los tranques han sido diseñados para la acumulación de agua con el objetivo de ser usados para fines agrícolas, consumo humano o generación eléctrica (Río Elqui, s.f.).

Algunos tranques comparten similitudes con los humedales con por ejemplo que producen importantes beneficios ambientales y sociales. Los humedales tienen el potencial de mejorar la calidad del agua mejorando su biodiversidad, y ser usados para educación ambiental para la comunidad.

Esta investigación buscó evaluar la calidad microbiológica del agua y suelo del tranque “Embalse 3”. El estudio se centró en tomar muestras de agua y suelo para determinar los microorganismos contaminantes, ver su relación con los parámetros fisicoquímicos y el analizar del comportamiento de microorganismos como hongos en ambos componentes. Los resultados se van a comparar con la normativa chilena, con el propósito de identificar su calidad microbiológica.

2. ANTECEDENTES GENERALES

La calidad microbiológica del agua depende de la presencia de microorganismos indicadores de contaminación fecal como las bacterias, coliformes fecales y otros organismos patógenos que presentan un riesgo para el ser humano. La evaluación de estos microorganismos en los entornos acuáticos proporciona información útil para la toma de decisiones relacionadas con la conservación y la gestión de la zona.

Existen estudios microbiológicos que se realizan para determinar la presencia de patógenos en agua, como el método del Número Más Probable (NMP) establecido en la norma NCh 1620/1. Of84. Esta norma establece la determinación estimada de bacterias coliformes totales en agua, mediante la técnica de tubos múltiples (Instituto Nacional de Normalización, 1984).

Además del análisis de bacterias en el agua, la identificación de hongos en agua y suelo fue otro aspecto relevante en los estudios microbiológicos. Para el estudio de los hongos presentes en suelo, se emplea la técnica de “Recuento en Placa” según lo establecido en la NCh 2734. Of2002. Esta norma establece el método de referencia para la determinación de hongos y levaduras mediante dicho procedimiento (Instituto Nacional de Normalización, 2002). En el caso de hongos presentes en agua se utiliza la técnica descrita por Iqbal y Webster (1973).

Además de los estudios microbiológicos, la calidad del agua también se evalúa mediante parámetros fisicoquímicos que son indicadores que describen las propiedades físicas y químicas del agua, dentro de los más importantes están la temperatura, conductividad, sólidos disueltos totales (TDS), pH y turbidez.

La conductividad se define como la capacidad del agua para conducir una corriente eléctrica a través de los iones disueltos (State Water Resources Control Board, 2018).

Los sólidos totales disueltos (TDS) incluyen las sales, los minerales, los metales y cualquier otro compuesto orgánico o inorgánico que se encuentra disuelto en el agua (Carbotecnia, 2021)

El pH es una medida que indica la acidez o la alcalinidad del agua. Se define como la concentración de iones de hidrógeno en el agua (State Water Resources Control Board, 2010).

La turbidez del agua es un parámetro relevante en el control de la calidad del agua para consumo, referido a los sólidos dispersos y las partículas en suspensión en el agua, que podrían portar contaminantes microbiológicos, químicos y otros, nocivos para la salud humana (Baeza, 2024).

De manera complementaria, la calidad del agua también estaría regulada por la normativa NCh1333.Of78 del Instituto Nacional de Normalización (INN). Esta norma establece criterios de la calidad basados en aspectos físicos, químicos, biológicos, según el uso determinado de agua. Dentro de los aspectos biológicos está el contenido de coliformes fecales en aguas de riego destinadas al cultivo de verduras y frutas que se desarrollen a ras de suelo y que habitualmente se consumen crudas, debe ser menor o igual a 1.000 coliformes fecales por 100 ml (Instituto Nacional de Normalización, 1978).

En el contexto de la calidad del agua, es relevante considerar los ecosistemas en los que se encuentra como los tranques, estos pueden ser susceptibles a contaminación por lo cual es importante definirlos adecuadamente. Los tranques son un depósito artificial de agua que se forma haciendo una presa en un valle o quebrada (Colegio de Ingenieros Agrónomos de Chile A.G, s.f.). De manera similar, los humedales, naturales o artificiales, se definen como una zona de la superficie terrestre que está temporal o permanentemente inundada, regulada por factores climáticos y en constante interrelación con los

seres vivos que la habitan, pueden clasificarse en urbanos o rurales (Fundación Aquae, s.f.)

Tanto los tranques como los humedales son ecosistemas importantes ya que proporcionan hábitats para diversas especies, son fundamentales para la biodiversidad y la conservación de la flora y fauna, por otro lado, ayudan a regular el ciclo del agua y contribuyen al equilibrio ambiental (RAMSAR, 2025). En Chile existe la ley 21.202 de Humedales Urbanos, la cual modifica diversos cuerpos legales con el objetivo de proteger los humedales urbanos e introducir en la legislación nacional el concepto de humedal urbano, esto debido a la gran importancia que tienen para las ciudades, como áreas verdes, espacios para la recreación, control de inundaciones, mitigación al cambio climático, entre otros. (MMA, s.f.).

Además, la ley establece que para delimitar un Humedal Urbano hay 3 criterios de delimitación: 1) presencia de vegetación hidrófita, 2) presencia de suelos hídricos con mal o sin drenaje, y 3) un régimen hidrológico de saturación ya sea permanente o temporal que genera condiciones de inundación periódica. Si el área cumple al menos uno de estos criterios, se considera un humedal urbano, sin necesidad de cumplir los otros (MMA, s.f.).

También, la ley entrega a los municipios herramientas concretas que permitirá proteger los humedales urbanos, a través de la elaboración de Ordenanzas Generales para la protección de humedales urbanos y la postergación de permisos de subdivisión predial, loteo, urbanización y de construcciones. Además, esta ley modificó la LBGMA N° 19.300 en el Art. 10, literales p), q), r)

y crea una nueva letra s), y establece que los humedales urbanos declarados por el Ministerio del Medio Ambiente deben ser incluidos en los Instrumentos de Planificación Territorial a toda escala como “área de protección de valor natural” (MMA, s.f.).

El estudio se centró en el tranque “Embalse 3 Chillán”, un cuerpo de agua artificial identificado en el Inventario Nacional de Humedales. Se caracteriza por permanecer en condiciones de inundación o con suelo saturado durante largos periodos de tiempo, es distinguido por la presencia de vegetación ribereña adaptada a suelos húmedos. Su ecosistema es de suma importancia ya que presenta una variedad de especies silvestres y flora aumentando su biodiversidad. Es importante señalar que el tranque cuenta con una compuerta a través de la cual recibe agua del Canal de la Luz, lo que convierte a este punto en un posible foco de contaminación. Además, al estar ubicado en una zona urbana, enfrenta desafíos adicionales que podrían impactar su calidad y funcionamiento.

3. HIPÓTESIS

La calidad microbiológica del agua y del suelo del tranque “Embalse 3” son deterioradas debido a la influencia de actividades humanas y agrícolas cercanas.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Describir los parámetros microbiológicos y fisicoquímicos del agua y suelo del tranque “Embalse 3” durante los meses de agosto a diciembre, 2024.

4.2. Objetivos específicos

- Identificar la presencia de microorganismos indicativos de contaminación fecal.
- Determinar los parámetros fisicoquímicos del agua y los parámetros microbiológicos del agua y suelo del tranque “Embalse 3”.
- Identificar la presencia de hongos en el agua y suelo del tranque “Embalse 3”.
- Comparar las cinéticas de crecimiento de microorganismos y su relación con los parámetros fisicoquímicos estudiados.

5. METODOLOGÍA

5.1. Área de estudio

El tranque “Embalse 3”, se ubica en el centro de la zona urbana de la ciudad de Chillán, en la región de Ñuble, Chile. Sus coordenadas geográficas son 36°35'45,5”S72°04'26.7”W. Aunque es pequeño, este tranque se encuentra en un extenso terreno agrícola de la Universidad de Concepción, el cual presenta una diversidad biológica interesante importante de analizar. Las muestras de agua y suelo se recolectaron dentro del área del tranque, según se detalla en la Figura 1. Para las muestras de agua, se seleccionaron

diferentes puntos de muestreo: a 1 metro de la orilla, y en el centro del tranque. En cuanto a las muestras de suelo, se determinaron 5 puntos aleatorios distribuidos alrededor del tranque, tal como se muestra en la Figura 2.

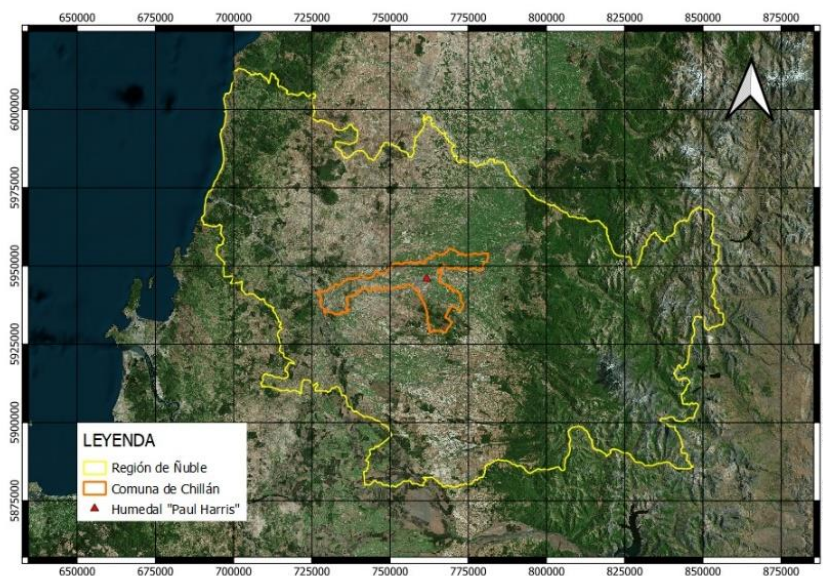


Figura 1. Imagen satelital en Qgis que indica la ubicación del tranque, Chillán, región de Ñuble, Chile.



Figura 2. Puntos seleccionados para muestreo del tranque, ubicado en el Campus Chillán de la Universidad de Concepción, Chillán, región de Ñuble, Chile.

5.2. Recolección de Muestras

Para comenzar el procedimiento de toma de muestras de agua y suelo, se preparó el equipo necesario, el cual incluyó un cooler con frascos de muestreo estériles, guantes desechables, etiquetas impermeables, bolsas estériles y gel refrigerante, con el fin de mantener la temperatura adecuada durante el transporte.

El muestreo de agua se llevó a cabo utilizando un frasco estéril sujeto a un cordel. Se recolectan dos muestras: una a 1 m de la orilla y la otra al centro del tranque. Posteriormente, las muestras fueron mezcladas para capturar diferentes características del cuerpo de agua, garantizando una evaluación más completa y representativa (Instituto Nacional de Salud, s.f.).

En cuanto al muestreo de suelos, se recolectaron 5 muestras a lo largo de la orilla del tranque, tal como se ilustra en la Figura 2. Este enfoque buscó asegurar resultados más precisos y representativos. Las muestras se obtuvieron excavando un orificio de aproximadamente 10 cm de profundidad con una cuchara pequeña previamente esterilizada, y se colocaron en bolsas debidamente etiquetadas para su posterior análisis (MMA , 2013).

Una vez recolectadas, las muestras de agua y suelo fueron manipuladas con precaución para evitar cualquier tipo de contaminación. Las muestras de agua se mantuvieron en frío para preservar sus características, mientras que las de suelo se almacenaron en bolsas selladas, garantizando la conservación de la humedad y protegiéndolas de agentes contaminantes externos. El

procedimiento utilizado tuvo como objetivo garantizar la trazabilidad e integridad de las muestras durante el proceso de análisis.

Todos los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología y Microbiología Aplicada, mientras que los análisis fisicoquímicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Hidroambiental, ambos ubicados en la Facultad de Ingeniería Agrícola, dentro de las 48 horas siguientes a la recolección.

5.3. Análisis Microbiológico

Para realizar el análisis de la investigación y la determinación la densidad microbiológica del agua, se utilizó la metodología del Número Más Probable (NMP/100 ml), de acuerdo con la normativa NCh 1620/1. Esta técnica proporciona una estimación estadística de la densidad microbiana presente en la muestra y permite detectar la presencia de coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y *Samonella*.

Para la determinación de enterobacterias en el suelo, se empleó la técnica de Recuento en placa, establecida en la normativa NCh 2734. Of2002, la cual permite cuantificar el número de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).

5.3.1. Medios de Cultivo

Los medios nutritivos de cultivo que se utilizaron para estos análisis fueron:

- Lauril Sulfato Triptosa (LST): Para detección y recuento de coliformes en aguas, aguas residuales y alimentos. Se consideran resultado positivo el crecimiento bacteriano y la producción de gas (Britania Lab, s.f).
- EC: Medio utilizado para el recuento de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en agua, alimentos y otros materiales. Se consideran resultado positivo el crecimiento bacteriano y la producción de gas (Britania Lab, s.f).
- Bilis Verde Brillante al 2% (BVB): Es un medio de cultivo que inhibe el desarrollo de bacterias Gram positivas y negativas a excepción de coliformes, que es para lo cual se utilizó con la técnica del NMP.
- Agar Levine: su función principal es el aislamiento selectivo de la bacteria *E. coli*. Una característica distintiva de una muestra positiva es el crecimiento y aparición de un color verde brillante y metálico. Esto se debe a la interacción entre las colonias de *E. coli* y los componentes del medio (Condalab, s.f).
- YMG: Se ocupa para producir compuestos con actividad antibiótica contra microorganismos Gram positivos y levaduras (Mariana Avalos, s.f.).
- Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD): Para el aislamiento de bacterias enteropatógenos, especialmente del género de *Shigella* y *Salmonella* (Condalab, s.f.).
- Agua peptonada: Recomendado como diluyente para la homogeneización de muestras en el análisis microbiológico y para el enriquecimiento previo de Enterobacteriaceae y *Salmonella* (Condalab, s.f.).

- Medio MR-VP: Medio utilizado para la realización del ensayo de Rojo de Metilo y Voges Proskauer. Es particularmente útil para la clasificación de enterobacterias (Britania Lab, s.f).

5.3.2. Preparación de Muestras

A. Muestras de Agua

Para la preparación de las muestras de agua fueron sometidas a una agitación vigorosa, haciendo movimientos de arriba hacia abajo, con el objetivo de garantizar la homogeneidad de la muestra.

B. Muestras de Suelo

Para la preparación de las muestras de suelo, se pesaron 10 g de las muestras recolectadas y se mezclaron entre sí. La mezcla resultante fue homogeneizada, y a partir de esta se tomaron 10 g, a los cuales se le añadieron 90 ml de agua petonada. Posteriormente, la solución fue homogeneizada manualmente, desasiendo los grumos para garantizar una mezcla uniforme antes del análisis.

5.3.3. Siembra e Incubación

1. Componente Agua

A. Técnica del Número Más Probable (NMP/ 100 ml).

I. Prueba Presuntiva para Coliformes en agua

Se realizó un análisis presuntivo siguiendo la normativa NCh 1620/1 para determinar para la presencia de bacterias coliformes totales mediante el método de diluciones directas. La muestra se inoculó en tubos de cultivo con LST simple y LST doble según concentraciones y volúmenes de la Tabla 1.

Tabla 1. Volúmenes de muestra de agua, concentración de medios y tubos inoculados.

Volumen de Muestra	Concentración LST	Cantidad de tubos inoculados
10 ml	Doble	5
1 ml	Simple	5
0,1 ml	Simple	5

II. Incubación y lectura de ensayos positivos en prueba presuntiva

Se llevó a incubación a 37°C por 48 horas y se observaron los resultados. Al finalizar el periodo, los tubos que tenían presencia de gas y turbidez son considerados positivos para la prueba presuntiva de coliformes totales. Luego, estos tubos se sometieron a un ensayo confirmativo debido a que pueden existir falsos positivos porque las bacterias coliformes pudieron ser inhibidas por la flora bacteriana acompañante.

III. Prueba Confirmativa para Coliformes Totales y Coliformes Fecales en agua

Al realizar las pruebas presuntivas, los tubos que arrojaron resultados positivos se transfirieron a tubos con medio EC para confirmar la presencia de coliformes fecales y con medio BVB para confirmar la presencia de coliformes

totales. Al terminar el traspaso, el cultivo EC se llevó a un baño termostático a 44,5°C por 24 horas y el cultivo BVB se llevó a estufa a 37°C por 48 horas. Al finalizar el periodo, los tubos que presentaron turbidez y gas en su interior confirman la existencia de coliformes totales y fecales, como se ve en la Figura 3.

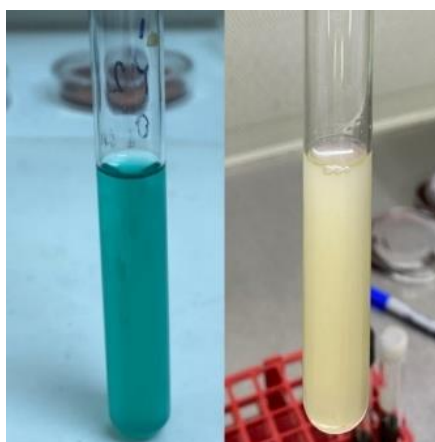


Figura 3. Resultados positivos para Coliformes totales en medio BVB y Coliformes Fecales en medio EC, respectivamente.

IV. Prueba confirmativa para *E. coli* en agua

Los resultados positivos para coliformes fecales que se determinaron de las pruebas con cultivo EC, se transfirieron mediante un asa estéril a placas Petri con medio Levine. Las placas se etiquetaron y se dividieron con la cantidad de resultados positivos que arrojaron y se guardaron invertidas en la estufa a 37°C por 24 horas. Finalizado el periodo, las colonias que se tornaron verde metalizado fueron consideradas positivas para *E. coli*, como se observa en la Figura 4.

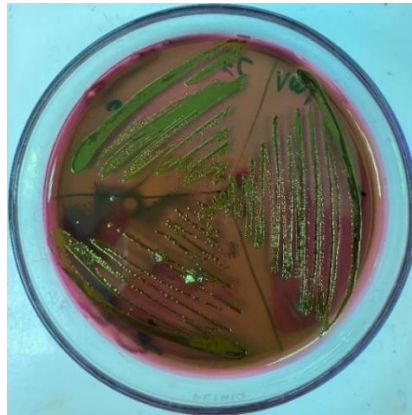


Figura 4. Tres resultados positivos para *E. coli* en medio agar Levine.

V. Prueba confirmativa para *Salmonella* en agua

Los resultados positivos en caldo BVB para coliformes totales, se transfirieron al medio de cultivo XLD (Xilosa-Lisina-Deoxicolato), favoreciendo el crecimiento de *Salmonella*, esto se puede confirmar cuando las colonias toman un tono rojo con puntos negros, el cual indica la fermentación de xilosa y la producción de ácido sulfhídrico, como se observa en la figura 5.



Figura 5. Cinco resultados negativos para *Salmonella* en medio Agar XLD.

B. Técnica para analizar hongos de agua

Para la detección de hongos en la muestra de agua, se empleó la técnica descrita por Iqbal y Webster (1973), con algunas modificaciones. Tras la homogeneización de la muestra, se procedió a filtrar 1 L de agua utilizando un equipo de filtración por membranas, Figura 6. El proceso se realizó de manera escalonada, comenzando con un filtro de 2.7 μm , seguido de un trasvase y la colocación de un filtro de 1.6 μm . Posteriormente, se repitió el trasvase y se colocó un filtro de 1.0 μm y finalmente, de 0.45 μm . Este procedimiento escalonado se implementó para evitar que se tapara el filtro. Terminado el procedimiento, se colocan los filtros en placas Petri para conservar sus características, como se observa en la Figura 7.



Figura 6. Equipo filtrador por membranas.

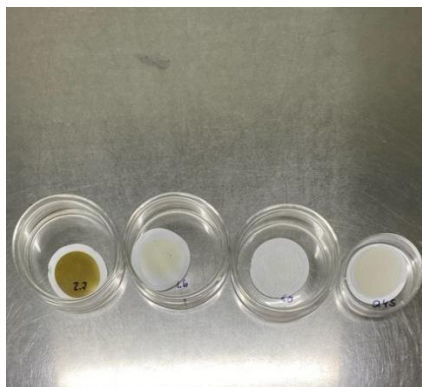


Figura 7. Filtros de membranas para agua.

Completado el paso anterior, cada filtro se cortó en fragmentos de aproximadamente 1 mm^2 , por duplicado, utilizando tijeras y pinzas esterilizadas. Estos fragmentos se sembraron en placas Petri que contenían medio YMG, como se observa en la Figura 8. Las placas se incubaron a 25°C durante un periodo de 3 a 4 días para favorecer el crecimiento fúngico. Los hongos desarrollados se purificaron hasta obtener cepas puras.

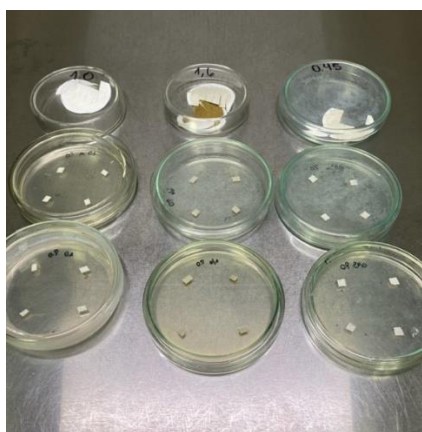


Figura 8. Siembra de filtros de agua para la obtención de hongos.

2. Componente Suelo

A. Técnica de Recuento de Coliformes en Placa

I. Preparación de diluciones

Para llevar a cabo este procedimiento, se siguió la normativa NCh 2734. Se tomó la muestra de suelo previamente preparada con agua peptonada y se comenzaron a realizar diluciones seriadas siendo la dilución 10^{-1} la primera, se tomó un 1 ml de esta primera dilución con la ayuda de una pipeta y se le agregó a un tubo que contenía 9 ml de agua peptonada, generando la dilución 10^{-2} , se repitió el procedimiento hasta llegar a la dilución 10^{-5} .

II. Siembra en profundidad e incubación

Para detectar Enterobacterias se utilizó agar VG que contenían previamente las placas. Con la ayuda de una pipeta se tomó 1 ml de la dilución 10^{-1} y se agregó a una placa Petri por duplicado etiquetándolas con la misma dilución (10^{-1}), luego de esto se introdujo la pipeta en la segunda dilución y se tomó 1 ml para depositarlo en la segunda placa por duplicado, se repitió el proceso completando las 5 placas por duplicado. Se esperó la solidificación de las placas para volver a agregar medio VG con el fin de simular condiciones anaeróbicas. Se realizaron movimientos antihorarios, de arriba hacia abajo y lado a lado 5 veces, se esperó hasta solidificar y se dejaron invertidas en la estufa a 37°C por 24 horas.

III. Recuento de Unidades Formadoras de Colonias

Para el conteo de enterobacterias se tomó la dilución que contenga no más de 150 colonias. Para el cálculo y expresión de resultados se utilizó la ecuación 1.

Ecuación 1. Conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g).

$$\text{UFC} = \frac{\bar{x} \text{ colonias} \times \text{dilución}}{g} \quad [1]$$

Donde:

UFC = Unidad formadora de colonias.

\bar{x} = Promedio de colonias seleccionadas.

dilución = Dilución a la inversa.

g = gramos de suelo usados.

IV. Prueba confirmativa para Coliformes Totales y Coliformes Fecales en suelo

Se tomaron 5 colonias que presentaban un halo de luz al rededor y se traspasaron a 5 tubos de EC y 5 tubos de BVB. Los tubos con medio EC se llevaron a baño termorregulado a 44.5°C por 24 horas y los tubos con medio BVB se llevaron a estufa a 37°C por 48 horas. La presencia de turbidez y gas en los tubos indican resultados positivos para coliformes fecales o coliformes totales respectivamente.

V. Prueba confirmativa para *Salmonella* en suelo

B. Técnica para analizar hongos de suelo

Se aplicó el procedimiento previamente descrito en el punto I. de preparación de diluciones.

Una vez preparadas las diluciones, se depositó 1 ml de cada dilución a placas Petri por duplicado y se le agregó medio YMG. Las placas se incubaron a 25°C durante un periodo de 3 a 4 días para favorecer el crecimiento fúngico. Los hongos desarrollados se purificaron hasta obtener cepas puras.

5.4. Parámetros Físicoquímicos

Las muestras de agua fueron sometidas a un análisis detallado para determinar sus parámetros físicoquímicos, como la temperatura, el pH, conductividad eléctrica (CE), sólidos totales disueltos (TDS) y turbidez. Este proceso permitió la creación de un registro continuo para monitorear las variaciones a lo largo del tiempo.

5.4.1. Utilización de equipos y análisis

Para tomar registros se utilizaron máquinas como:

- Conductímetro: registra el valor de conductividad y sólidos totales disueltos.
- Peachímetro: sensor utilizado en el método electroquímico para medir pH de una dilución (Gobierno de Aragón, 2024).
- Turbidímetro: dispositivo portátil para medir turbidez.

Para medir la conductividad se procedió a verter la solución en un recipiente de plástico de no menos de 10 cm de altura, luego se colocó la sonda dentro del recipiente, asegurándose que la misma quede sumergida en la disolución

por lo menos en unos 5 cm. Se esperó aproximadamente 5 segundos hasta que se estabilizó la medición (Kalstein, s.f.).

Para medir el pH de la solución se debió esperar media hora antes de usar el sensor. Se retiró el electrodo de su almacenamiento y se pasó por agua destilada. Se sumergió en una solución de pH 4, luego se sumergió nuevamente en agua destilada y finalmente se midió el resultado de pH (Kalstein, s.f.).

Para medir la turbidez, primero se midieron 10 ml de la muestra en una cubeta pequeña intentando formar el mínimo de burbujas, se dejó reposando unos segundos. Se introdujo la cubeta dentro del dispositivo y se esperó unos segundos a que arrojará los resultados.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Análisis Microbiológico

Se aplicó la técnica del Número Más Probable (NMP), establecida en la NCh 1620/1, con el objetivo de determinar la presencia de las bacterias coliformes totales, fecales y presencia de *E. coli* en las muestras de agua que se analizaron.

Tabla 2. Resultados del análisis microbiológico de las muestras del tranque “Embalse 3”.

MES	CT	CF	<i>E. coli</i>
Agosto	1600	0	0
Septiembre	21	7.8	7.8
Octubre	540	79	79

Noviembre	1600	21	21
Diciembre	1600	13	13

La Tabla 2, muestra los valores de coliformes totales, coliformes fecales, y *E. coli* en NMP/100 ml en diferentes meses evidenciando una variación en la calidad microbiológica del agua. Cabe destacar que la cantidad de coliformes fecales fue la misma que la de *E. coli*. En agosto, el valor de 1600, indicó una alta carga microbiológica, aunque no de origen fecal ya que no se obtuvo registros de coliformes fecales ni *E. coli* (Figura 9 y 10). En este mes se registró una precipitación mensual de 102,6 mm según los registros de la estación meteorológica de Chile (DMC), pero el día del muestreo de 0,2 mm, ya que en el tranque no se observaron escurrimientos visibles por lo cual no mostraron relación. En septiembre, se registró un aumento leve en los coliformes fecales y *E. coli* a 7.8, lo que pudo deberse a la concentración de coliformes producto de una disminución en el nivel del agua, o también por contaminación externa de animales que habitan el sector. Este mes se registró una precipitación mensual de 50 mm según la DCM, aunque no llovió días previos al muestreo ya que se encontró suelo seco y compactado, sin señales de humedad reciente, lo que descarta la idea de que el aumento de coliformes sea por las altas precipitaciones. En octubre, los coliformes totales aumentaron a 540, y los coliformes fecales y *E. coli* significativamente a 79 siendo el peak máximo registrado en todo el periodo de estudio. Este incremento pudo deberse a una lluvia puntual tres días antes del muestreo de 5,4 mm, la cual produjo un

posible escurrimiento de material fecal proveniente del suelo producto de actividades aledañas al tranque. Esto explicaría que la lluvia por sí sola no determinó la presencia de coliformes, sino que su efecto depende de la capacidad de movilizar contaminantes desde el entorno. En noviembre, los coliformes totales volvieron a aumentar significativamente a 1600, en cambio los coliformes fecales y *E. coli* disminuyeron a 2. Esto pudo ser porque el nivel del tranque aumentó considerablemente producto de la entrada de agua del Canal de la Luz, lo que provocó que se diluyera la carga contaminante. Este mes registró nuevamente 5,4 mm de precipitación mensual, pero al no haber lluvias previas al muestreo no se observaron escurrimientos, lo que sugiere que la lluvia no tuvo relación. Finalmente, en diciembre los coliformes totales se mantuvieron en 1600, pero los coliformes fecales y *E. coli* disminuyeron ligeramente a 13. La continua entrada desde el Canal de la Luz pudo haber contribuido a la dilución de contaminantes reduciendo su concentración en la muestra. Estos resultados indicaron que no existe una relación directa entre la lluvia total mensual y la presencia de coliformes fecales en el tranque. Los coliformes fecales podrían mostrar una mayor relación con la interacción de eventos de puntuales de escurrimiento, posiblemente por fuentes externas de contaminación como la actividad ganadera y presencia de fauna silvestre. Esto se evidenció en octubre debido al incremento significativo en su cantidad a comparación con los otros meses. Por lo tanto, se podría decir que los coliformes fecales y *E. coli* presentes en el tranque son influenciados por las condiciones del entorno agrícola ayudado por las condiciones ambientales, es

decir en presencia o ausencia de precipitaciones y el volumen del tranque en los días específicos a la toma de muestras y los días previos, más que por la cantidad de precipitación mensual.

El tranque al destinarse para riego de cultivos debe cumplir la NCh 1.333, que establece un límite de 1000 para coliformes fecales en aguas de riego. En los resultados obtenidos, los valores registrados se encuentran dentro de la normativa ya que el valor más alto alcanzado fue de 79, manteniéndose dentro del límite permitido.

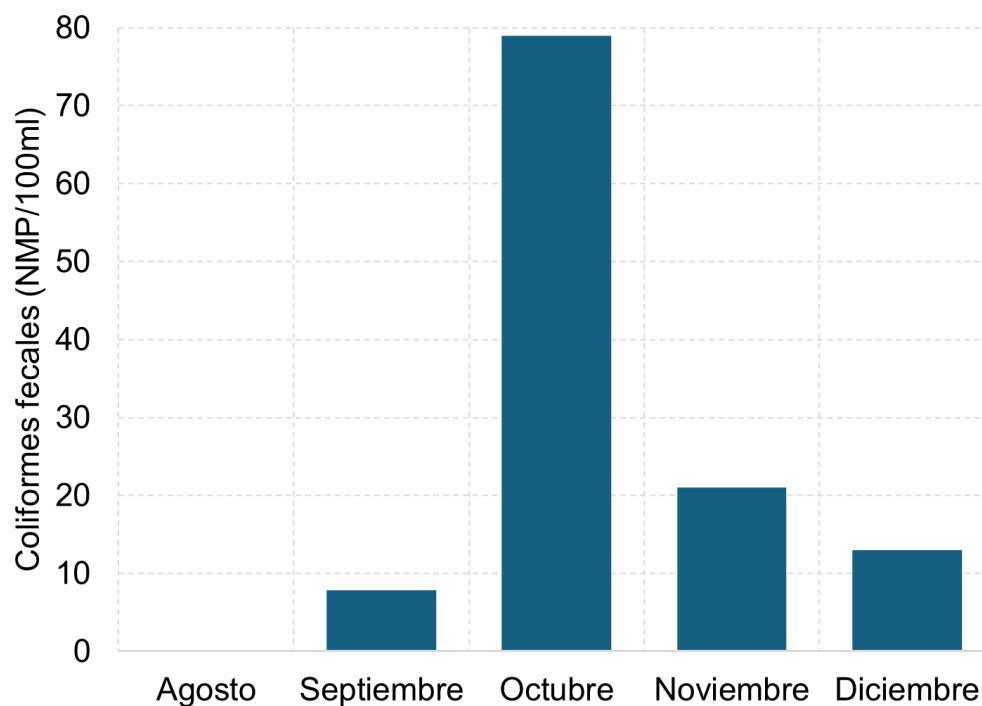


Figura 9. Resultado de Coliformes Fecales (CF) en muestras de agua del tranque "Embalse 3" en el periodo de estudio.

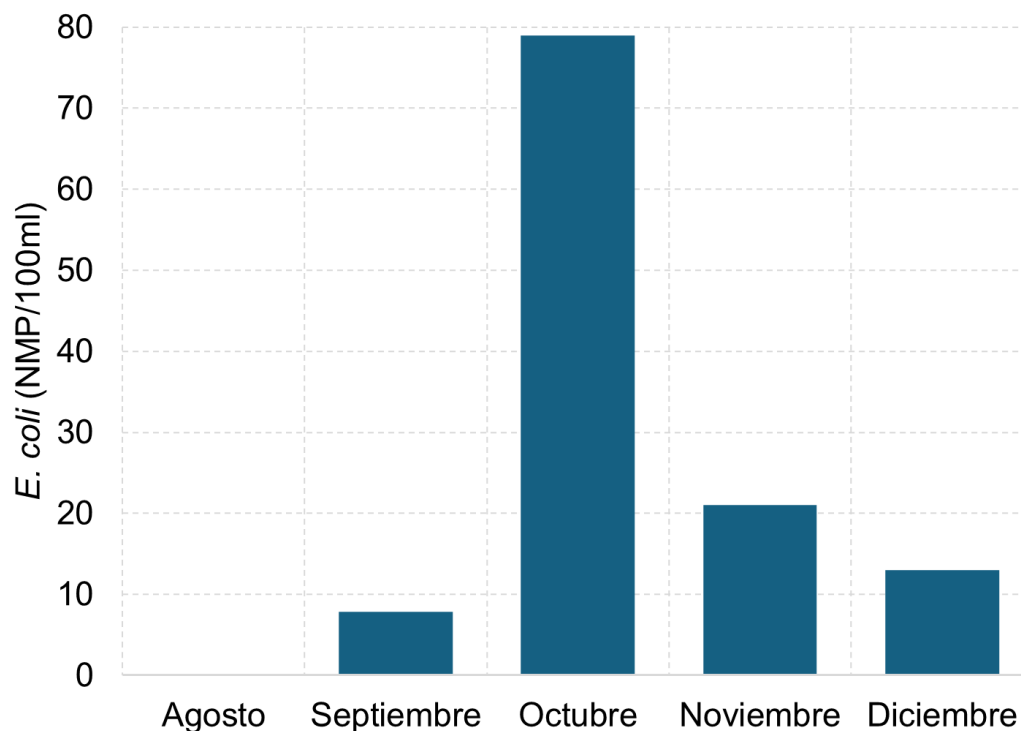


Figura 10. Resultado de *Escherichia coli* (*E. coli*) en muestras de agua del tranque “Embalse 3” en el periodo de estudio.

En el caso de los análisis de *Salmonella* en muestras de agua, no se obtuvieron resultados positivos. El hecho de que no haya sido detectada en los análisis es una buena señal ya que indicó que el agua no contenía este patógeno y que el ambiente posiblemente tampoco era propicio para que se desarrollara. Esto reduce el riesgo de enfermedades entéricas, lo cual es importante para el uso de agua en el riego de cultivos para consumo humano. Aunque es positivo considerar la ausencia de *Salmonella* en las muestras analizadas, no significa que nunca esté presente. Su detección puede depender de factores ambientales como la temperatura, el pH, o también puede provenir del agua del canal en otro periodo. Por esta razón, es

importante mantener un monitoreo constante que permita verificar que la situación se mantenga estable a lo largo del tiempo.

El uso de agua contaminada para riego de cultivos puede traer graves consecuencias tanto ambientales como sanitarias. Ambientalmente, el agua al estar contaminada puede traspasar al suelo alterando ecosistemas cercanos. Sanitaria y alimentariamente, puede contaminar los cultivos con coliformes fecales como *E. coli*, transmitiendo enfermedades gastrointestinales. Para evitar que ocurra esto, sería necesario ir monitoreando continuamente la calidad de agua.

En la tabla 3, se observan las mediciones de los parámetros fisicoquímicos en el periodo de estudio. Su monitoreo permitió detectar las variaciones en la calidad del agua del tranque “Embalse 3” y ver si existe relación con posibles fuentes de contaminación. Se observa un aumento importante en la conductividad eléctrica lo cual indica que hay más sales disueltas en el agua. En el caso de la temperatura se puede ver un aumento moderado a medida que transcurren los meses, esto es producto del cambio de estación de primavera a verano. Los TDS mostraron variaciones moderadas a lo largo del periodo de estudio, lo que indica que la cantidad de partículas disueltas en el agua no presentó cambios significativos. Esto podría deberse a que el tranque está un entorno agrícola por lo que está constantemente expuesto a aporte de minerales, sales inorgánicas y materia orgánica. El pH se puede observar que es cercano a neutro lo cual es positivo para el tranque. Finalmente, la turbidez presentó fluctuaciones durante los tres primeros meses lo que podría estar

relacionado con las condiciones ambientales al momento del muestreo. En agosto y octubre, se registraron precipitaciones leves y moderadas respectivamente, las cuales probablemente ayudaron al incremento de partículas suspendidas hacia el tranque, aumentando la turbidez. En cambio, en septiembre no se registraron precipitaciones y el nivel del tranque disminuyó, lo que podría haber favorecido la sedimentación de partículas suspendidas, disminuyendo la turbidez. Esto sugiere que el tranque mantiene una cantidad constante de partículas en suspensión, probablemente asociadas a las condiciones del entorno agrícola.

Tabla 3. Resultados del análisis fisicoquímico del tranque “Embalse 3”.

MES	Conductividad eléctrica (us/cm)	Temperatura (°C)	TDS (PPM)	pH	Turbidez (NTU)
Agosto	11.9	13.2	56.7	8.91	21.0
Septiembre	126.2	17.7	62.1	8.84	14.72
Octubre	152.0	24.4	55.9	7.16	25.57
Noviembre	77.0	23.3	39.2	8.61	16.92
Diciembre	55.6	29.5	25.3	7.24	9.16

En la Figura 11, se muestra una visión general de la variación de los parámetros fisicoquímicos en el periodo de estudio. Se puede observar que el peak de conductividad y turbidez es en octubre, lo que podría estar favoreciendo el crecimiento microbiano, incluida la *E. coli*. La temperatura al aumentar moderadamente sugiere que ayuda al crecimiento de bacterias ya

que estas prefieren temperaturas altas. El pH es un factor de crecimiento para la *E. coli* por lo que también ayuda a su reproducción. Los TDS van en disminución a partir de noviembre posiblemente porque al ingresar agua desde el canal de la Luz generó que se diluyeran los nutrientes y sales inorgánicas.

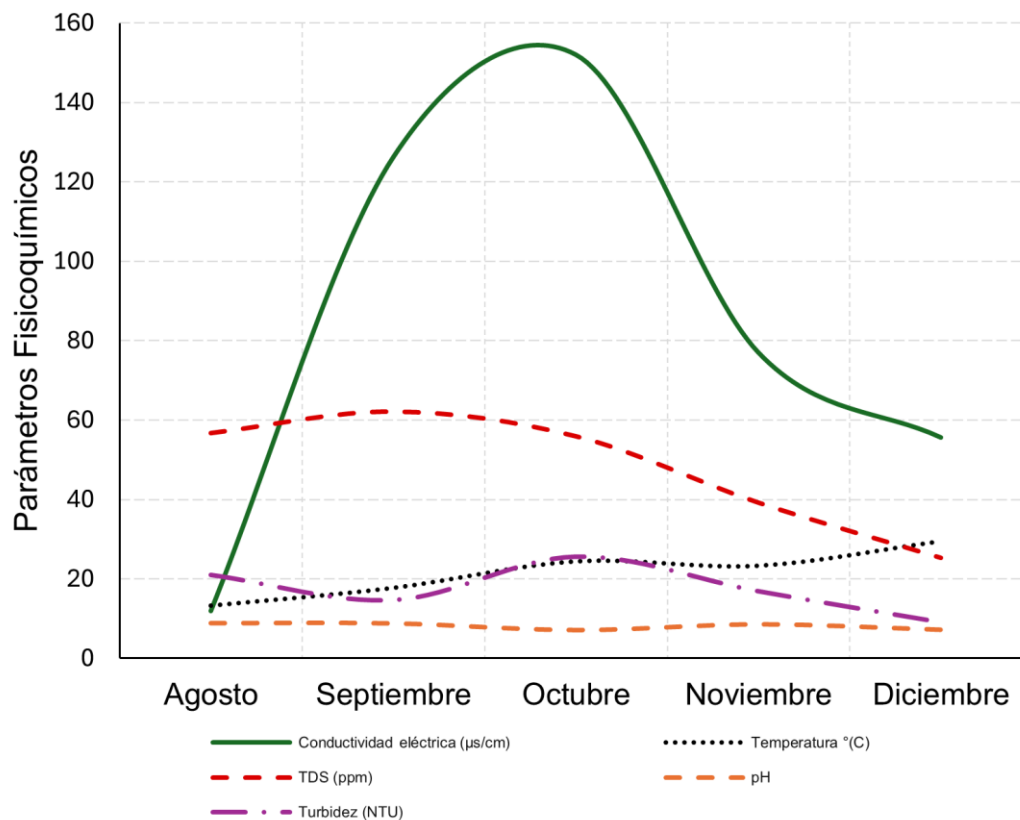


Figura 11. Representación gráfica de las mediciones de conductividad, temperatura, TDS, pH y turbidez.

Al relacionar los parámetros fisicoquímicos con la calidad microbiológica se destacó que la conductividad aumentó drásticamente en septiembre, que es cuando comienzan aparecer coliformes fecales y *E.coli*, como se observa en la Figura 12, pero se descarta que tuvieran relación ya que el aumento de ambos no fue en forma proporcional. El aumento de coliformes fecales pudo

deberse a la disminución del nivel agua registrada ese mes, sumado con la ausencia de lluvia previas que posiblemente provocó que se concentraran las sales y materia orgánica. En octubre, los coliformes aumentaron drásticamente, pero la conductividad presentó un aumento leve, lo que refuerza la teoría de que no tienen relación directa ya que tampoco fueron proporcionales. Una posible explicación al aumento de coliformes y conductividad es que días antes se registró una lluvia de 5,4 mm y esto produjo un escurrimiento de material fecal y sales disueltas en el suelo. En noviembre y diciembre ambos comienzan a disminuir, pero se sugiere que fue producto de la entrada de agua del Canal de la Luz que posiblemente provocó que se disminuyeran ambos factores.

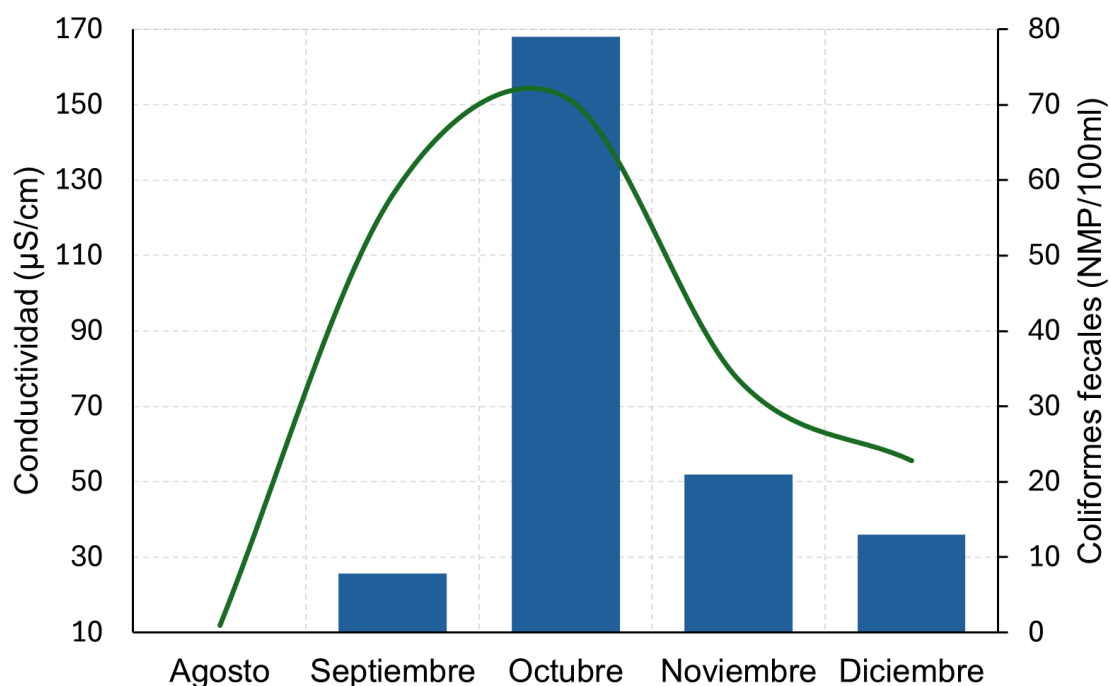


Figura 12. Concentración de coliformes fecales del tranque “Embalse 3” y su relación con la conductividad eléctrica (us/cm) en el agua.

Por otro lado, el pH mostró una relación inversamente proporcional con la presencia de coliformes fecales y *E. coli*, como se observa en la Figura 13. Se debe considerar que la *E. coli* crece en un rango de pH óptimo de 6 a 7 (P.Fegan, 2003), lo que explica el aumento de *E. coli* en octubre con un pH de 7.16, y la disminución septiembre, noviembre y diciembre con pH que se alejan del necesario para crecer. Esto sugeriría que no es un factor determinante de crecimiento de microorganismos ya que en diciembre al tener un pH más adecuado para el crecimiento de *E. coli*, su valor disminuyó.

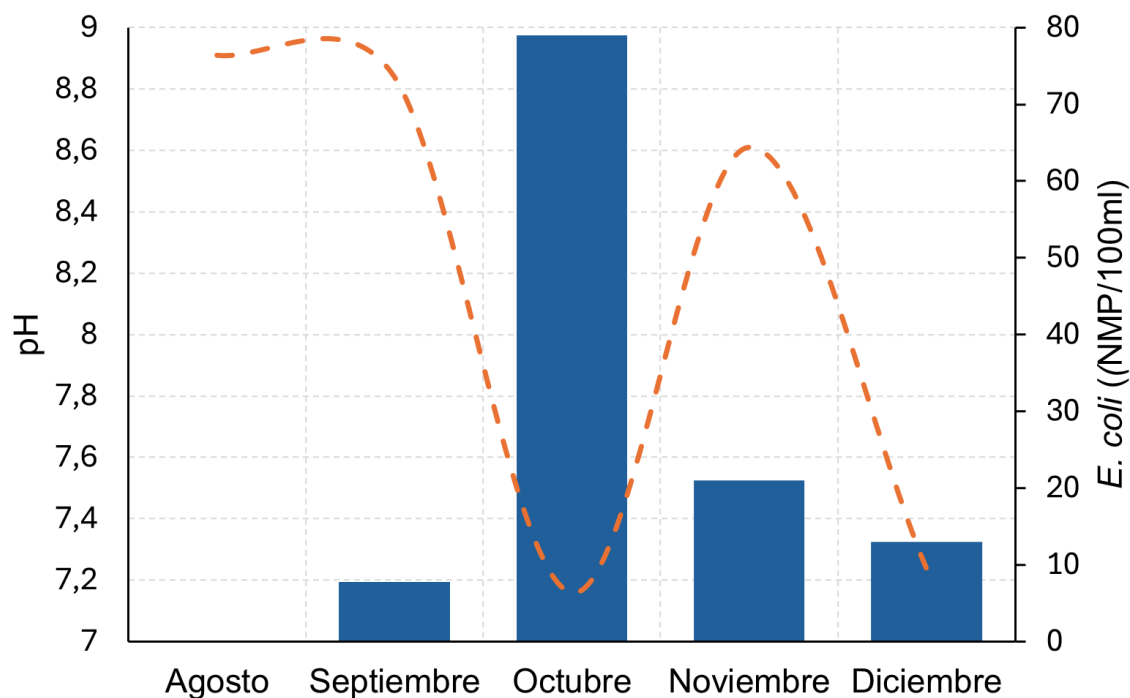


Figura 13. Concentración de *E. coli* del tranque “Embalse 3” y su relación con el pH en el agua.

Los TDS se mantuvieron estables en agosto y septiembre y luego disminuyeron en forma progresiva por lo que no coincide con el valor máximo de TDS sugiriendo que no tienen relación como se observa en la Figura 14.

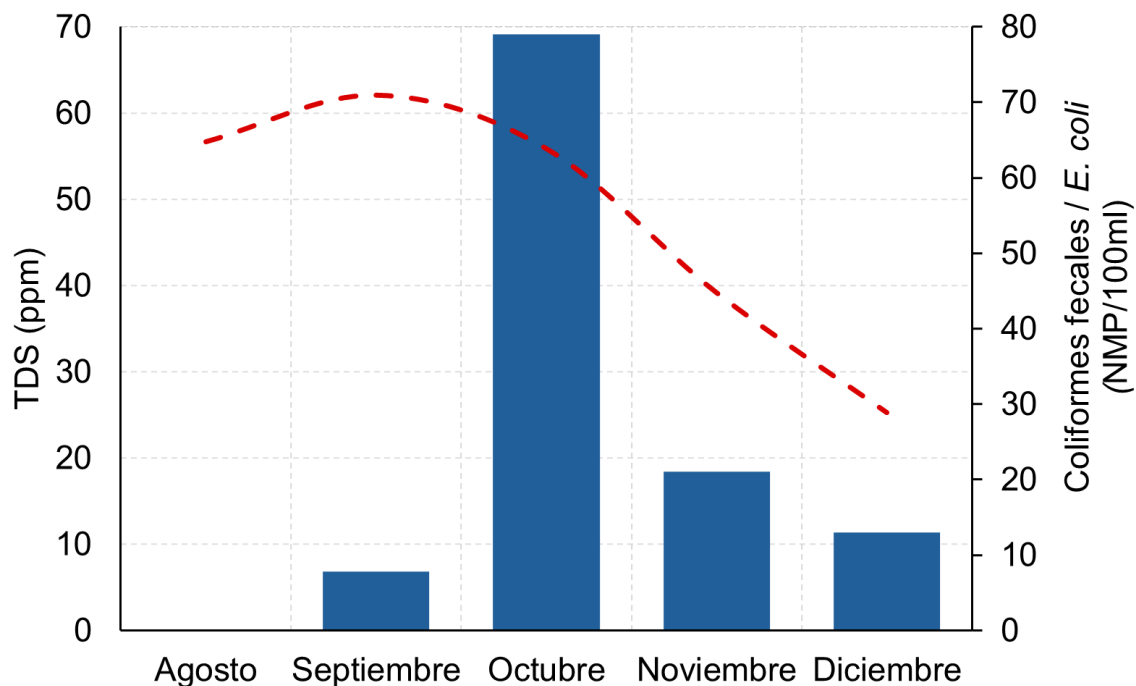


Figura 14. Concentración de coliformes fecales y *E. coli* del tranque “Embalse 3” y su relación con los TDS en el agua.

En el caso de la turbidez, si bien presentó un comportamiento similar al de los coliformes fecales a partir de octubre, en septiembre no se observa una relación directa tal como se ve en la figura 15, esto debido a que, a pesar del leve aumento de bacterias, la turbidez disminuyó. Mientras que, en noviembre y diciembre al ingresar agua proveniente del canal provocó que elevara su nivel y esto posiblemente ayudó a la disminución de las partículas suspendidas y los coliformes producto de su dilución.

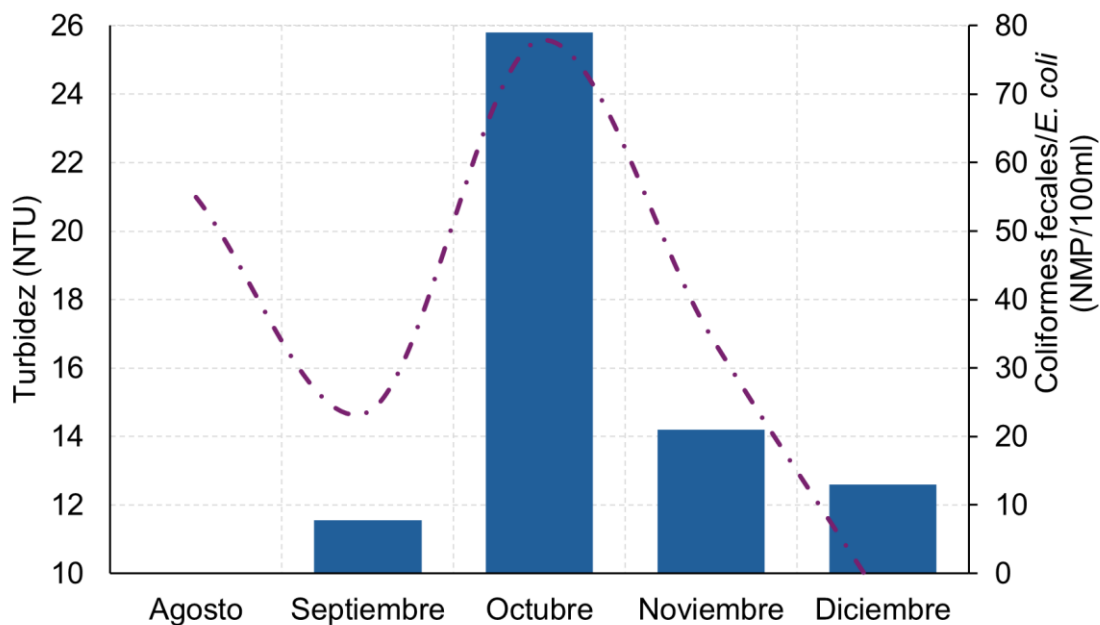


Figura 15. Concentración de coliformes fecales del tranque “Embalse 3” y su relación con la turbidez en el agua.

La temperatura si bien es un factor importante de crecimiento para los coliformes y la *E. coli*, no mostró una relación clara ya que estas bacterias al ser mesófilas crecen en temperaturas óptimas de 35 a 37°C, pero en diciembre al estar más cercana a esas temperaturas los coliformes disminuyeron como se ve en la Figura 16.

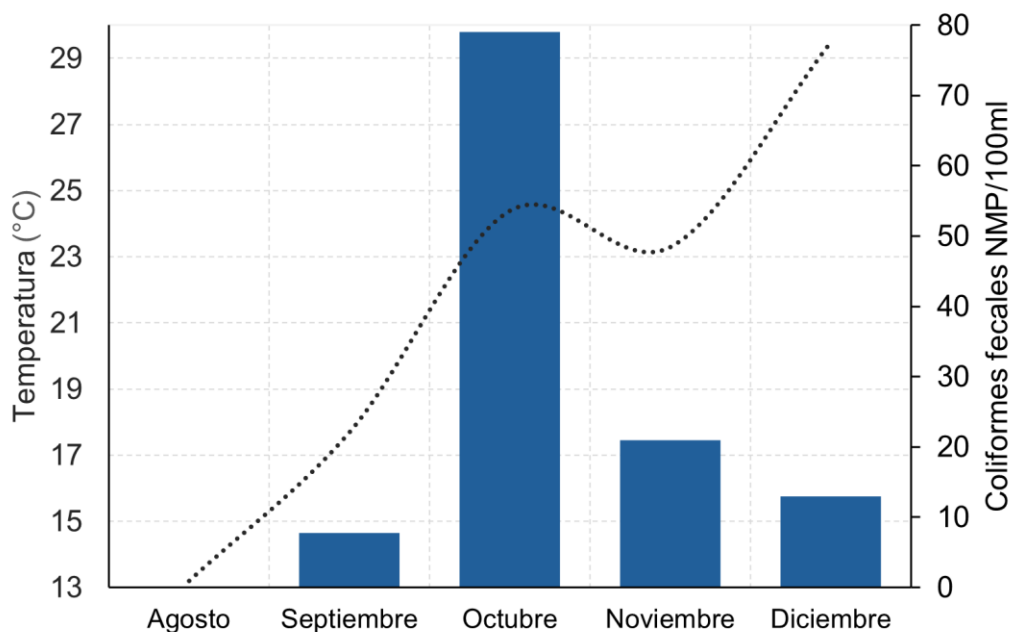


Figura 16. Concentración de coliformes fecales del tranque “Embalse 3” y su relación con la temperatura en el agua.

Todos los parámetros evaluados se encontraron dentro de los rangos aceptables establecidos por la normativa chilena NCh1333.Of78, la cual establece los requisitos de calidad de agua para diferentes usos, en este caso para riego. Para la conductividad eléctrica establece que valores mayores a 750 (us/cm) el agua puede tener efectos perjudiciales en cultivos, el valor máximo registrado fue de 152 (us/cm) por lo que está dentro del rango. En el caso de los TDS, los valores mayores a 500 mg/l, presentan efectos perjudiciales en los cultivos, el valor más alto registrado en el periodo de estudio fue de 62.1 mg/l, lo que indicaría una buena calidad de sales disueltas. En el pH, debe estar en un rango entre 5,5 y 9,0, los registrados están entre 8,91 y 7,24 por lo que no presenta riesgos para cultivos. En el caso de la turbidez la norma no establece un límite específico, aunque generalmente en

sistemas de riego para no dañar las bombas y el equipo de riego se establece que de 10 a 50 NTU son valores aceptables, por lo que estarían dentro del rango los registros de turbidez en el tranque.

De manera simultánea, se realizó un registro de hongos encontrados en el tranque en las muestras de agua y suelo de septiembre y octubre, en las cuales se encontraron una variedad de cepas repetidas en algunos meses en ambos componentes ambientales. En la Tabla 4, se observa el registro de los hongos encontrados en el periodo de estudio. La Figura 17, muestra la descripción de los hongos de forma macroscópica, microscópica y tipo de especie. Los géneros identificados se pudieron determinar microscópicamente diferenciando las hifas y esporas, y macroscópicamente mediante la tonalidad, crecimiento, textura y coloración del agar. El resto de los hongos no se pudo identificar la especie por lo que están asignados únicamente con un código, en el Anexo. El muestreo de hongos no se realizó en los meses de noviembre y diciembre debido a que subió el nivel del agua del tranque imposibilitando muestrear en suelo.

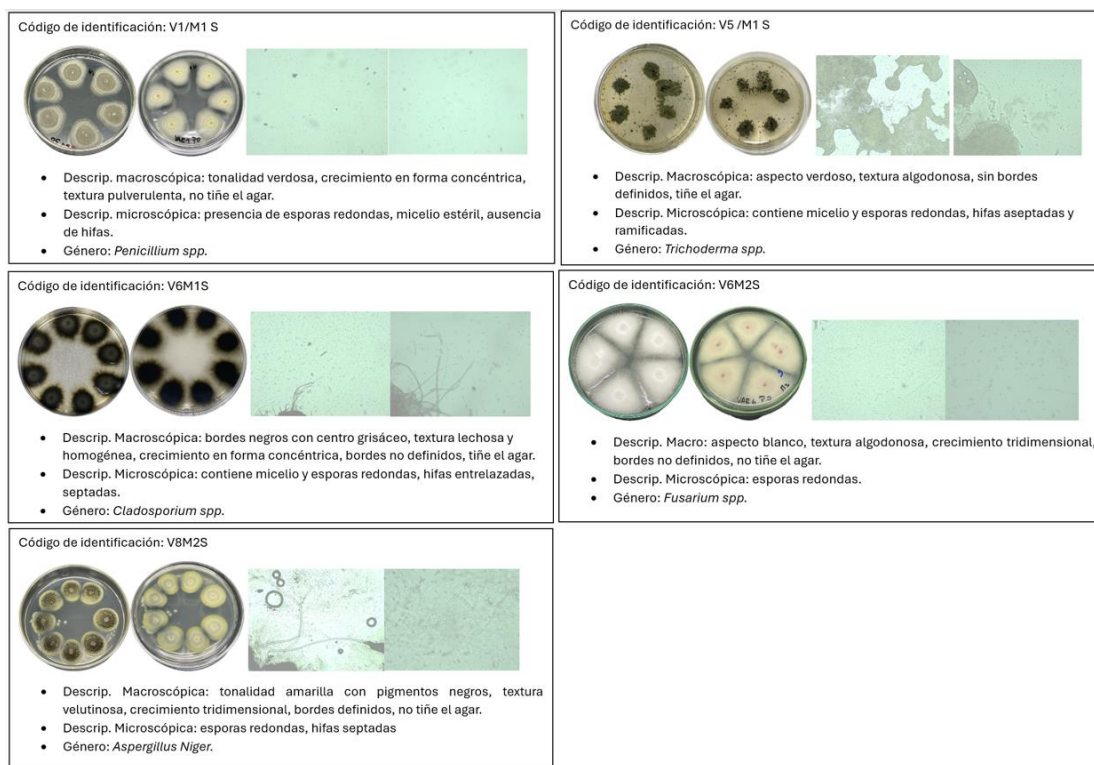


Figura 17. Registro de cepas de hongos encontrados en muestras de agua y suelo del tranque ubicado en el Campus Chillán de la Universidad de Concepción.

Tabla 4. Diversidad y distribución de géneros de hongos identificados en suelo y agua del tranque.

Muestreo	Septiembre		Octubre	
	Suelo	Agua	Suelo	Agua
<i>Aspergillus nigger</i>	-	-	+	-
<i>Cladosporium</i> spp	+	+	+	-
<i>Fusarium</i> spp	-	-	+	-
<i>Penicillium</i> spp	+	-	+	-
<i>Trichoderma</i> spp	+	-	+	-
V2M1S	+	-	-	-

V3M1S	+	-	-	-
V4M1S	+	-	-	-
V8M1S	+	-	-	-
V9M1S	+	-	-	-
V2AM2S	-	-	+	-
V2BM2S	-	-	+	-
V1M1A	-	+	-	-
V3M2A	-	-	-	+
Total	10		8	

+: Presencia del hongo; -: Ausencia del hongo.

El análisis de las muestras de agua y suelo del tranque “Embalse 3” revelaron una diversidad de hongos adaptados a su entorno. La presencia del hongo *Cladosporium* en ambos componentes ambientales indicó su capacidad de supervivencia y adaptación a las distintas condiciones del entorno. *Cladosporium* crece en zonas húmedas y se encuentra también en hojas muertas. Microscópicamente presenta hifas septadas que sostienen cadenas ramificadas de conidios en forma elíptica y macroscópicamente forma colonias aterciopeladas o pulverulentas de tonos oscuros (INSST, 2022). Es un hongo que resiste condiciones secas lo que explica su presencia en suelo, en cambio, en agua su presencia pudo deberse a que la concentración de materia orgánica producto del bajo nivel del tranque hizo un ambiente más propicio para su crecimiento. En octubre, posiblemente al haber lluvias moderadas días previos, se diluyó la concentración de esporas reduciendo su detección en

agua. En cambio, los géneros como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Trichoderma* se encontraron solo en el suelo lo que pudo ser por las características que presentan, el modo en el que se dispersan y las necesidades que tienen. Son hongos saprófitos que se desarrollan en ambientes con gran cantidad de materia orgánica muerta, como en suelos agrícolas, por lo que en el agua la disponibilidad de sustrato es menor lo que imposibilita o reduce su crecimiento. Por un lado, *Aspergillus* crece en condiciones húmedas, comúnmente en hojas muertas o vegetación en descomposición. Es filamentoso y está formado por hifas septadas, y su textura es aterciopelada o algodonosa tomando tonos amarillentos, marrones o verdes dependiendo de la especie (INSST, 2021). Su ausencia en septiembre pudo ser porque las condiciones secas no permitieron su crecimiento, en cambio en octubre las lluvias al aumentar la humedad en suelo pudieron permitir un ambiente óptimo para su crecimiento. En el caso de *Fusarium*, suele encontrarse en las plantas, aire y agua, pero sobre todo en el suelo ya que es un miembro abundante del microbiota. Microscópicamente presentan macroconidios en forma de medialuna, hialinos y septados, macroscópicamente tiene micelio rosado y blanco (Gobierno de México, 2020). La ausencia en septiembre podría deberse a que este hongo se adapta mejor en ambientes húmedos, por lo que su aparición en octubre confirmaría que las lluvias crearon un ambiente más húmedo propicio para que crezca en suelo. *Penicillium*, es conocido por su amplia distribución en diversos ecosistemas, se presenta en cualquier lugar donde exista material orgánico en

descomposición. Macroscópicamente las colonias tienen una textura filamentosa, aterciopelada o algodonosa y microscópicamente presenta hifas hialinas septadas y conidióforos (Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo, 2022). Por otro lado, *Trichoderma* se encuentra también en ecosistemas terrestres como bosques y suelos agrícolas. Macroscópicamente presentan micelio de consistencia esponjosa abundante (García-Nuñez, 2017). Presenta conidios ramificados con hifas globosas o elipsoidales. Tanto *Penicillium* como *Trichoderma* se encontraron en suelo en septiembre y octubre lo que se podría concluir que tienen una mejor resistencia a variaciones del ambiente. En cambio, ambos géneros no se encontraron en muestras de agua. Se registró una mayor cantidad de hongos en septiembre, posiblemente por las condiciones de baja humedad y poca agua disponible ya que todo se concentra más incluyendo esporas, también el no tener lluvias hace que las esporas permanezcan más tiempo en el lugar permitiendo que crezcan, El nivel bajo del tranque deja al descubierto zonas de suelo mojado y rico en nutrientes, lo que es perfecto para hongos como *Fusarium*, *Penicillium* o *Cladosporium*. En cambio, en octubre al ser lluvioso se produce una dilución de materia orgánica en el suelo, lavando esporas y provocando que haya menor oxígeno en suelos. Se registró más presencia de hongos en suelo que en agua en ambos meses, lo que sugiere que los hongos de suelo son más estables y menos dependientes de la lluvia, lo que explicaría por qué en octubre, aunque hubo precipitaciones el suelo no tuvo mayores cambios y los hongos pudieron tolerar las condiciones. También la humedad y la cantidad

de materia orgánica disponible pudo haber sido la adecuada para que los hongos crecieran. La menor presencia de hongos en agua en comparación con el suelo podría deberse a que este medio es más hostil para su desarrollo, pudo ser también por una menor concentración de esporas presentes en el agua, o bien la baja cantidad de materia orgánica en comparación con el suelo. También puede ser porque muchos hongos están solo de paso, ya que las esporas pueden llegar al agua desde suelo, hojas, ramas, pero muchas no desarrollan colonias en el agua.

En el estudio de hongos de agua y suelo se complementaron con los parámetros fisicoquímicos, ya que los hongos para que se desarrollen necesitan estar a una temperatura, humedad, nutrientes y pH determinados para que puedan crecer. Los hongos crecen a una temperatura entre 20 y 30°C y a un pH entre 4.8 y 7.8 dependiendo del género. En el caso de la temperatura, en octubre aumentó a 24,4°C y se observó una disminución leve en la cantidad de hongos, esto podría haber pasado porque algunos hongos son sensibles a temperaturas altas explicando la disminución. En cambio, el pH, bajó en octubre a 7.16 acercándose a un ambiente neutro, esto pudo haber afectado en el crecimiento de hongos ya que algunos prefieren ambientes alcalinos explicando la disminución de hongos. Los demás parámetros tampoco mostraron una relación positiva a excepción los TDS. Se registró que los TDS disminuyeron ligeramente en octubre a 55.9 ppm y la cantidad de hongos en octubre también disminuyó levemente. Lo que podría atribuirse a que los TDS están influyendo el crecimiento fúngico.

6.1.2. Coliformes del suelo

En el caso de la detección de coliformes en suelo, se pudo realizar el muestreo únicamente en los meses de agosto a octubre, de noviembre y diciembre no se pudo recolectar muestras de suelo debido a que la apertura de las compuertas del Canal de La Luz aumentó el nivel desapareciendo la orilla del tranque. Los resultados obtenidos para el UFC se muestran en la Figura 18.

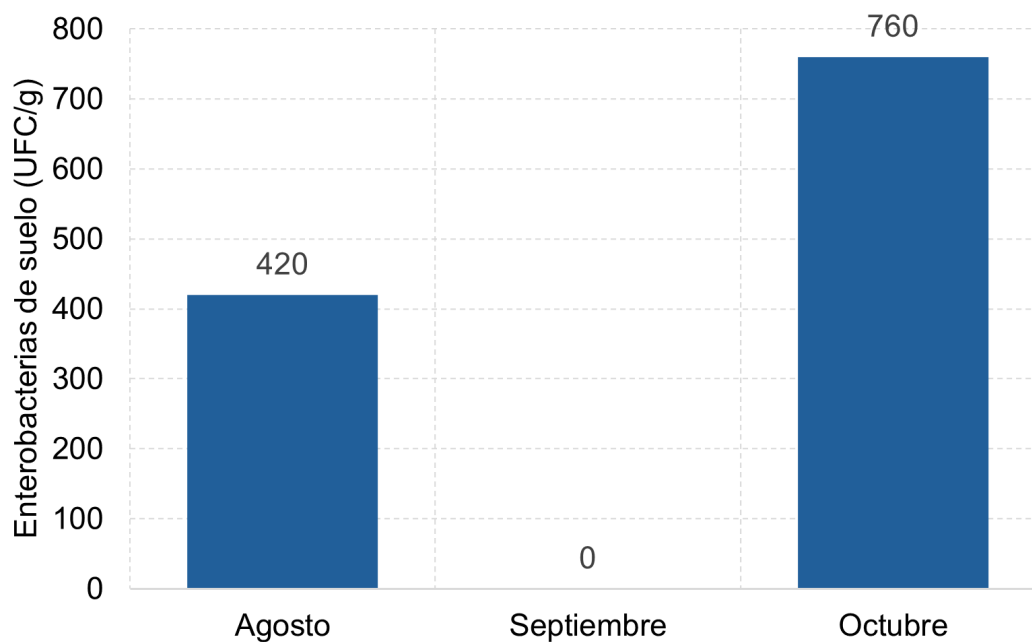


Figura 18. Recuento de las enterobacterias de suelo.

Los resultados de UFC/g de la Figura 18, muestran valores en el rango de 10^3 . En agosto se registraron 420 UFC/g posiblemente por acumulación de material orgánico del entorno, pero sin presencia de coliformes fecales. El valor pudo

estar atribuido a las precipitaciones ligeras que ocurrieron previas al muestreo lo que provocara que la humedad posiblemente activara bacterias en el suelo. En cambio, en septiembre se registró una disminución drástica a 0 UFC/g, indicando una actividad microbiana nula lo que no es común en suelos agrícolas. Por lo que el valor pudo estar relacionado con las condiciones más secas del suelo en ese periodo ya que si bien hubo precipitaciones durante el mes, el día del muestreo y los previos no se registró lluvia. Estas condiciones probablemente afectaron la supervivencia de bacterias inhibiendo su crecimiento o reduciendo su distribución en el suelo. En octubre, se registró un incremento significativo a 760 UFC/g, el nivel más elevado registrado en el periodo de estudio. Este aumento se pudo atribuir a que las lluvias previas al muestreo generaron condiciones de humedad ideales para el crecimiento de bacterias. También pudo ser que las lluvias arrastraron basura o materia orgánica desde áreas más alejadas del tranque, pero no se identificó presencia de coliformes fecales. En los meses posteriores no se pudieron obtener datos debido a que la apertura del Canal de la Luz elevó el nivel de agua del tranque y la orilla se inundó haciendo imposible recolectar muestras de suelo. La razón por la que no se haya encontrado coliformes fecales, *Salmonella*, y *E. coli* puede deberse a que el suelo tiende a filtrar y retener microorganismos de manera diferente que el agua, ya actúa como filtro natural reduciendo la concentración de bacterias. Otra posible razón para la ausencia de coliformes y *Salmonella* en el suelo son las condiciones ambientales, como la temperatura y la falta de humedad las cuales podrían haber contribuido a la

reducción o eliminación. En cambio, los coliformes totales, al ser un grupo amplio de bacterias, pudieron haber persistido mejor en el suelo.

6.1. Base para un futuro estudio de Declaración como Humedal Urbano

Toda la información recopilada del análisis microbiológico del tranque “Embalse 3” podría apoyar a un futuro estudio del Ministerio de Medio Ambiente para convertirse en un Humedal Urbano. El tranque es utilizado como reservorio de agua para actividades agrícolas. Sin embargo, a medida del transcurso de los años ha ido adquiriendo características relacionadas a las de un humedal urbano por lo que podría llegar a convertirse en uno contribuyendo a la biodiversidad, regulación hídrica, podría servir para educación ambiental, turismo ecológico y su calidad de agua mejoraría.

Los humedales son las extensiones de marismas, pantanos y turberas, o superficies cubiertas de aguas, sean éstas de régimen natural o artificial (Secretaría de la Convención de Ramsar, 2006).

Dentro de esta definición, se incluyen cuerpos de agua creados por actividades humanas, como tierras agrícolas de regadío.

Para que un cuerpo de agua como el tranque “Embalse 3” empiece a ser visto como un posible como Humedal Urbano bajo la Ley 21.202 y su D.S N°15, debe cumplir con al menos uno los tres criterios mínimos para delimitar un Humedal Urbano:

1. Presencia de vegetación hidrófita, es decir plantas adaptadas a vivir en suelos húmedos o inundados.

2. Suelos hídricos, refiriéndose a suelos que permanecen saturados de agua, lo que impide el desarrollo de plantas terrestres y favorece especies típicas de humedales.
3. Régimen hidrológico de saturación, significa que el área se inunda con regularidad ya sea todo el año o solo ciertas temporadas.

En este estudio se observó que el tranque cumple con el criterio de régimen hidrológico de saturación permanente, lo cual hace legible para su reconocimiento como Humedal Urbano. Sin embargo, no se identificó la de vegetación hidrófita, siendo únicamente vegetación ribereña, aunque esto no descarta que el área tenga características de humedal, ya que algunos humedales pueden presentar vegetación más diversa dependiendo de su ubicación y el grado de intervención humana al que haya estado expuesto. Por otro lado, se registró que el tranque tiene presencia de fauna acuática y aves lo que indicó que el ecosistema tiene un nivel de estabilidad y puede proveer alimento y refugio para distintas especies.

En relación con la calidad del agua y contaminación microbiológica analizada, cumple con la NCh1333.Of78 para uso de agua para diferentes usos incluido el de riego. La cantidad de coliformes fecales máxima registrada fue de 79 por lo que están dentro del rango. Los parámetros fisicoquímicos como el pH, la conductividad y sólidos disueltos estuvieron dentro del rango normal por lo que el tranque presentó una baja salinidad, lo que beneficioso para un humedal, un punto a favor para la biodiversidad. Sin embargo, la turbidez tiene valores altos en algunos meses lo que indicaría que el agua no es completamente

clara. En un humedal debe existir una turbidez moderada debido a que ayuda a retener nutrientes y al equilibrio ecológico del ecosistema. Un exceso de turbidez altera la incidencia de luz, afectando negativamente a los microorganismos y dificultando procesos esenciales como la fotosíntesis. Además, interfiere con la correcta transferencia de oxígeno, comprometiendo el equilibrio del ecosistema. Los valores de coliformes totales registrados en agua fueron de 1600NMP/ml, estando en el límite de la NCh 1620/1. En relación con los factores estacionales, se sugiere que la contaminación microbiológica en los periodos de lluvia aumentó considerablemente en el componente agua. En el suelo, tuvo una relación parecida ya que en los meses registrados con lluvia las UFC/g aumentaron, en cambio en el mes que no se presentó lluvia las colonias disminuían a 0 UFC/g.

Analizando los parámetros hidrológicos y su ubicación, el tranque está ubicado en la zona urbana de Chillán dentro de la Universidad de Concepción. Tiene conectividad con la ciudad mediante el Canal de La Luz que abrió sus compuertas en noviembre ingresando su caudal al cuerpo de agua. Sin embargo, la conexión con el canal implica que el flujo no es completamente natural. Para un humedal es ideal que tenga estabilidad en los niveles de agua para mantener un ecosistema sostenible. A pesar de tener problemas de contaminación, la transformación del tranque en un humedal urbano podría traer beneficios ambientales. Mediante la acción de plantas acuáticas y microorganismos beneficiosos, el humedal actuaría como un sistema natural de filtración, mejorando la calidad del agua no solo para la biodiversidad, sino

también para los cultivos que dependen de este recurso hídrico. Por consiguiente, el reconocimiento de humedal urbano puede ser solicitado mediante la tramitación de oficio por el Ministerio de Medio Ambiente o a solicitud del municipio respectivo. Dado que actualmente no existe un procedimiento formal para la recepción de solicitud se recomienda que las propuestas sean canalizadas a través de los municipios.

7. CONCLUSIONES

El análisis microbiológico del tranque evidenció una alta variabilidad en la calidad del agua en los meses estudiados. Se detectaron altos niveles de coliformes totales, en el caso de los coliformes fecales estaban dentro de rango establecido en la normativa chilena NCh 1.333, y *E. coli* en bajos valores, principalmente en los meses registrados con mayores precipitaciones y tras la apertura de la compuerta del Canal de La Luz. Por lo que se sugiere que el escurrimiento superficial y el ingreso del agua contaminada del canal hacia el tranque, son factores determinantes en la carga microbiológica. En contraste, los análisis de la presencia de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* en suelo reflejaron una menor contaminación microbiana en comparación con el agua, probablemente debido a la capacidad de filtración. Esto pudo estar atribuido a que los suelos actúan de filtro y amortiguador para los contaminantes (FAO, 2021)

Los parámetros fisicoquímicos analizados estarían dentro de los valores permitidos para el uso del agua en riego, según la NCh1333.Of78, a excepción de la turbidez que no está dentro de la normativa. Los resultados resaltan la necesidad de un monitoreo continuo de la calidad del agua, más si se ocupa con el fin de riego de cultivos, con el fin de evitar riesgos ambientales y sanitarios con relación a la contaminación fecal.

En relación con su potencialidad como humedal urbano, el tranque presenta características que favorecen su reconocimiento según la ley 21.2020 para humedales urbanos. Cumple con el criterio de régimen hidrológico de

saturación. El tener el reconocimiento como humedal urbano podría traer beneficios ecológicos significativos, mejorando la calidad del agua y promoviendo la biodiversidad local.

8. BIBLIOGRAFÍA

Baeza, E. (2024). *Regulaciones sobre turbiedad de agua y medidas que toman las empresas sanitarias para abordar problema: Casos de Chile, España, Israel, Países Bajos y Singapur*. Santiago. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile.

Biblioteca Nacional de Medicina. (2023, mayo 19). *Aspergilosis*. MedlinePlus. <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/001326.htm#:~:text=La%20aspergilosis%20es%20causada%20por,en%20las%20hojas%20de%20marihuana>.

Bonilla, S. (s.f). *Escherichia coli*. Universidad Veracruz. <https://www.uv.mx/personal/sbonilla/files/2011/06/escherichia-coli-i.pdf>

Britania Lab. (s.f). *E.C medio*. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6092dcb116850.pdf

Britania Lab. (s.f). *Lauril Sulfato Caldo*. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60706ced914d3.pdf

Britania Lab. (s.f). *MP VR medio*. https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070751064820.pdf

Carbotecnia. (2021). Carbotecnia. Obtenido de <https://www.carbotecnia.info/aprendizaje/desinfeccion/bacterias-coliformes-en-el-agua-potable/>

- Carbotecnia. (2021, octubre 13). *Sólidos Totales Disueltos*.
<https://www.carbotecnia.info/aprendizaje/quimica-del-agua/solidos-disueltos-totales-tds/>
- Colegio de Ingenieros Agrónomos de Chile A.G. (s.f.). *Embalses, Represas y Lagos de Chile*. <https://colegioingenierosagronomoschile.cl/embalses-represas-y-lagos-de-chile/>
- Condalab. (s.f.). *Agar XLD*. <https://www.condalab.com/medios-de-cultivo-deshidratados/1056-14788-agar-xld-agar-xilosa-lisina-desoxicolato-iso.html>
- Condalab. (s.f.). *Agua Peptonada*. <https://www.condalab.com/medios-de-cultivo-deshidratados/1141-11642-agua-peptonada-tamponada-iso.html>
- Condalab. (s.f.). *Agar Levine*. <https://www.condalab.com/medios-de-cultivo-deshidratados/56-14915-agar-levine-emb-bam-iso.html>
- Divaagen. (2021, marzo 23). *Divaagen*. <https://www.divaagen.com/metodo-del-numero-mas-probable/>
- FAO. (2021). *Contaminar nuestros suelos es contaminar nuestro futuro*. <https://www.fao.org/newsroom/story/Polluting-our-soils-is-polluting-our-future/es>
- Fundación Aquae. (s.f.). *¿Por qué los humedales son cruciales para la supervivencia de la humanidad?*.
<https://www.fundacionaquae.org/wiki/los-humedales-vitales-para-la-supervivencia-humana/>

- García-Nuñez. (2017). *Caracterización morfológica y molecular de cepas nativas de Trichoderma y su potencial de biocontrol sobre Phytophthora infestans*. Scielo.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092017000100058#B4
- Gobierno de Aragon. (2024). *Exposición de equipos antiguos: pHmetro*.
<https://www.aragon.es/-/laboratorio-agroambiental-equipos-antiguos-phmetro>
- Gobierno de México. (2020). *Fusarium spp.*
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/633031/Fusarium_spp_ma_z_2020.pdf
- INSST. (2021, octubre 20). *Aspergillus spp.* <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/aspergillus-spp>
- INSST. (2022, febrero 15). *Cladosporium spp.* <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/cladosporium-spp>
- Instituto Nacional de Normalización. (1978). NCh 1333.Of1978 Mod.1987: *Requisitos de calidad del agua para diferentes usos*. Santiago.
- Instituto Nacional de Normalización. (1984). *Agua potable - Determinación de bacterias coliformes totales - Parte 1: Método de los tubos múltiples (NMP) NCh 1620/1*. Santiago.
- Instituto Nacional de Normalización. (2002). *Productos hidrobiológicos - Determinación de hongos y levaduras - Técnica de Recuento en Placa*. Santiago.

Instituto Nacional de Salud Pública. (2020, agosto 26). *Importancia del agua para el buen funcionamiento de nuestro organismo.*

<https://www.insp.mx/insp/cuidando-tu-salud/importancia-agua.html>

Instituto Nacional de Salud. (s.f.). Manual de instrucciones para la toma, preservación y transporte de muestras de agua de consumo humano para análisis de laboratorio. Bogotá.

Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. (2022, mayo 18).

Penicillium spp. <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/penicillium-spp>

Kalstein. (s.f.). *Conductímetro o medidor de conductividad: ¿Cómo debe ser empleado?*

<https://kalstein.ec/conductivimetro-o-medidor-de-conductividad-como-debe-ser-empleado/>

Kalstein. (s.f.). *Medidor de pH.* <https://kalstein.net/es/medidores-de-ph/>

L. Aragón Caballero, M. C. (s.f.). *Aislamiento y conservación de hongos y bacterias.*

Mariana Avalos, B. R. (s.f.). *Caracterización de metabolitos secundarios con actividad antibiótica.* Sociedad Mexicana de Bioquímica y Biología:

<https://smbb.mx/congresos%20smbb/queretaro11/TRABAJOS/trabajos/VI/carteles/CVI-22.pdf>

MMA. (2013). *Guía para el muestreo de suelos.* Ministerio de Medio Ambiente Perú:

https://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-content/uploads/sites/22/2013/10/GUIA-PARA-EL-MUESTREO-DE-SUELOS-final.pdf?utm_source=chatgpt.com

- MMA. (2022). *Hongos en el humedal Mantagua*. Valparaíso.
<https://gefhumedales.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2022/03/Poster-Hongos-en-el-Humedal-Mantagua-Proyecto-GEF-v4.pdf>
- MMA. (s.f.). *Ley de Humedales Urbanos 21.202 y su Reglamento*.
<https://humedaleschile.mma.gob.cl/humedales-urbanos/>
- MMA. (s.f.). *Preguntas Frecuentes: Ley de Humedales Urbanos*.
<https://gefhumedales.mma.gob.cl/preguntas-frecuentes-ley-de-humedales-urbanos/>
- P.Fegan, D. y. (2003). *Microorganismos transmitidos por alimentos de importancia para la salud pública*.
- RAMSAR. (2025). *La importancia de los humedales*.
<https://www.ramsar.org/es/acerca-de/nuestra-mision/la-importancia-de-los-humedales>
- Rio Elqui. (s.f.). *Tranques comunitarios de acumulación de agua*.
<https://www.riodelqui.cl/tranques-comunitarios-de-acumulacion-de-agua/#:~:text=Un%20tranque%20no%20genera%20más,o%20no%20desean%20utilizarla%20directamente.>
- Secretaría de la Convención de Ramsar. (2006). *¿Qué son los humedales?*.
<https://www.ramsar.org/sites/default/files/documents/library/info2007sp-01.pdf>
- SNA. (2023). *Boletín 16.193-01: Modifica el Código de Aguas, con el objeto de facilitar la construcción de tranques de uso agrícola*. Santiago.

State Water Resources Control Board. (2010, marzo 17). *Folleto informativo pH.*

https://www.waterboards.ca.gov/water_issues/programs/swamp/docs/cwt/guidance/3140sp.pdf

State Water Resources Control Board. (2018). *Folleto informativo Conductividad Eléctrica/ Salinidad.* California.

9. ANEXOS



Figura 1. Registro del muestreo de agua y suelo del tranque en agosto.



Figura 2. Registro del muestreo de agua y suelo del tranque en septiembre.



Figura 3. Registro del muestreo de agua y suelo del tranque en noviembre.



Figura 4. Registro del muestreo de agua y suelo del tranque en diciembre.



Figura 5. Compuerta de agua procedente del Canal de la Luz, con destino al tranque (imagen 1: compuerta; imagen 2: destino).



Figura 6. Presencia de fauna acuática en el tranque.



Figura 7. Avistamiento de aves cazando en el tranque.

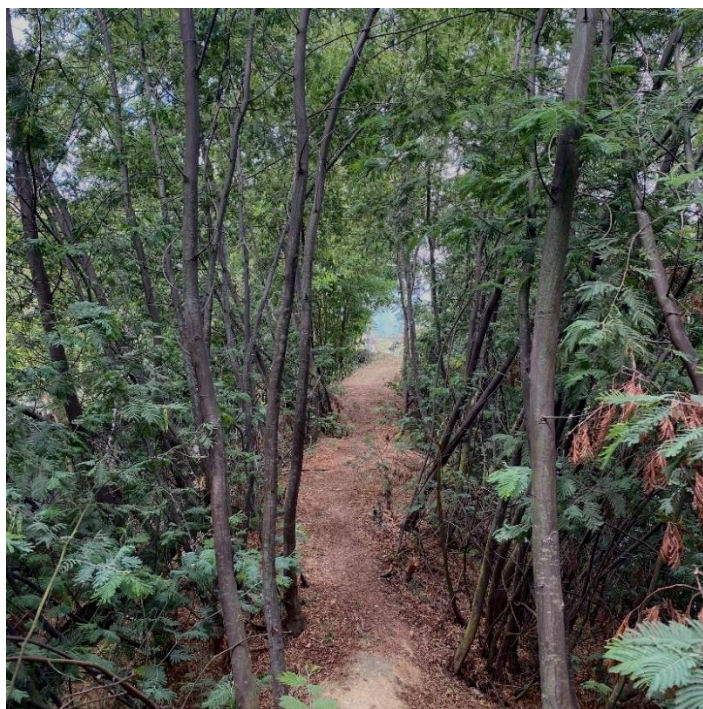


Figura 8. Presencia de vegetación ribereña alrededor del tranque.

Tabla 1. Registros de precipitaciones de la dirección meteorológica de Chile (DCM).

MES	Precipitación mensual (mm)	Precipitación total del muestreo (mm)	Precipitación 3 días
			Precipitación el día previos al muestreo (mm)
Agosto	102,6	0,2	0
Septiembre	50	0	0
Octubre	5,4	0	5,4
Noviembre	5,4	0	0
Diciembre	0	0	0



Figura 9. Contaminación por desechos sólidos alrededor del tranque.

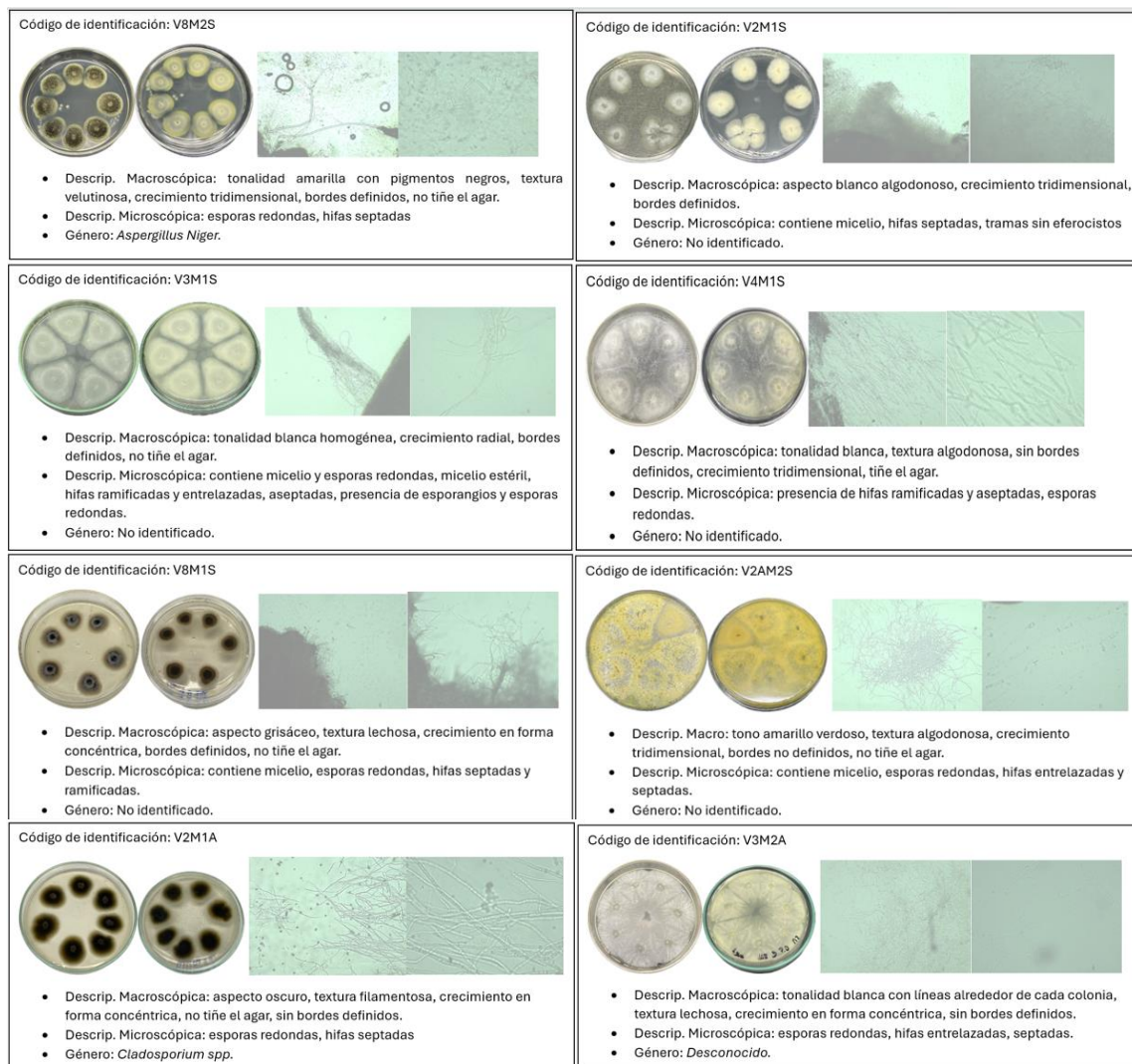


Figura 10. Registro de hongos encontrados en agua y suelo del tranque en septiembre y octubre.

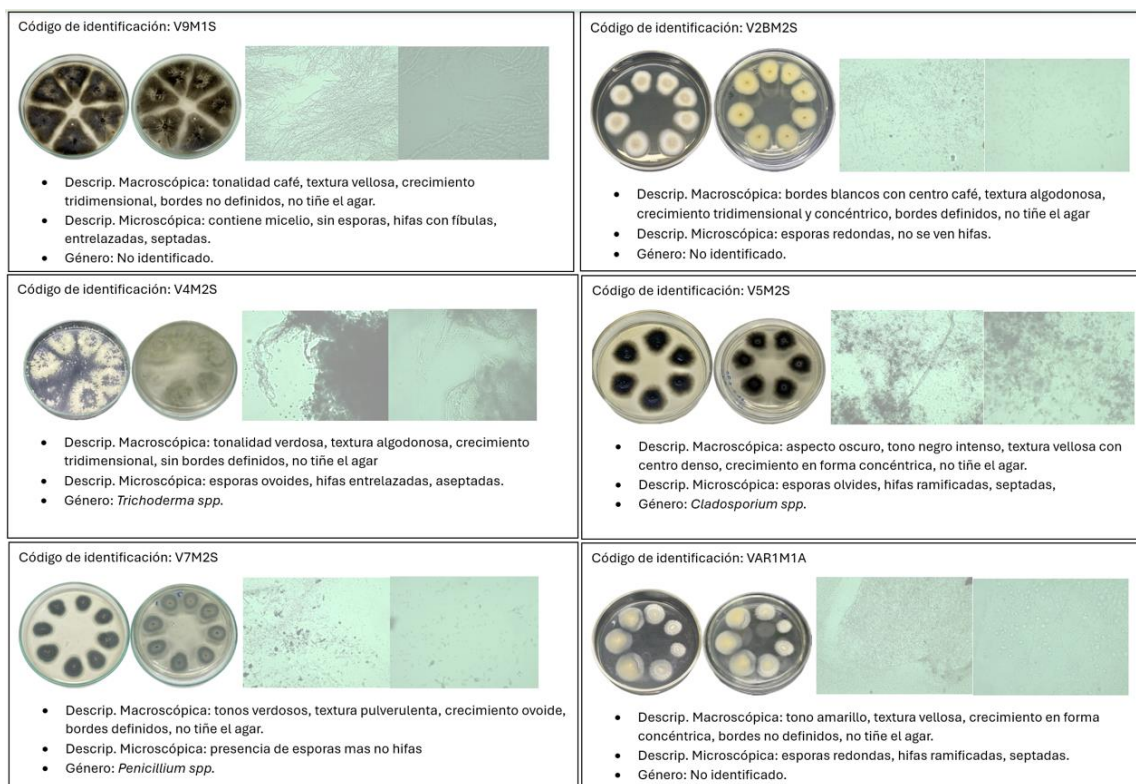


Figura 11. Registro de hongos encontrados en agua y suelo del tranque en septiembre y octubre.