



Facultad de Ciencias  
Departamento de Biología y Ciencias Ambientales  
Carrera de Ingeniería Ambiental

**“MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS  
COMO BIOINDICADORES DE CALIDAD DE AGUA; RESPUESTA  
AL FUNCIONAMIENTO DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO EN  
EL ESTERO LIMACHE, V REGIÓN, VALPARAISO”**

Trabajo de Titulación para optar al Título de Ingeniero Ambiental

Tesista: MARÍA SALOMÉ CÓRDOVA TRONCOSO

Profesor guía: Dr. Hernán Gaete Olivares

Valparaíso, Chile 2007

*Dedico el presente trabajo de titulación a los pilares fundamentales de mi alegre vida:*

*A mi papá el capitán Antonio, mi parujito, por haber regado todos estos años con tanta paciencia y cariño a sus árboles para que den frutos. Gracias por el consejo, tus palabras sinceras, por ser mi entrenador, por tener ese espíritu que siempre inspira a llegar a ser mejor y sobre todo por tener ese corazón tan grande y bueno.*

*A mi mamá M<sup>a</sup> Angélica, mi pequeña gigante, por ser la mujer mas valiente y fuerte, que es el mejor ejemplo de cómo recuperar rápido el espíritu y el cuerpo, por muy difíciles que sean los accidentes y las circunstancias. Gracias por tu arroz de madre, preocupación, dedicación a todos nosotros, tu cariño inmenso y tu paciencia.*

*A mi hermano Felipe, el bombachas, por compartir muchos momentos divertidos juntos, así como también, todo lo cotidiano que nos une.*

*A mi abuelita Carmen, mi tata Hugo, Joji, Carmen Paz, Cóne, Lalito y otros familiares cercanos por sus cariños y estar allí siempre.*

*Gracias al “flaco de arriba” y los del cielo, por cuidarnos y mantener unida la hermosa familia que tengo. Los quiero mucho.*

*Agradecimientos sinceros:*

*A mis profesores guía,*

*Con un asterisco y de manera significativa al profe Hernán Gaete\* que siempre me apoyo en los momentos personales difíciles y en el desarrollo de este trabajo de investigación. Gracias por ser como un partner más.*

*Al profe Sergio Zunino, por ser como el “padrino”, siempre afable y dispuesto a facilitarnos todo el material e información de apoyo a sus alumnos.*

*Al profe Ricardo Figueroa por su simpatía y sus publicaciones que guiaron la investigación.*

*A la profe Manana, por todas sus enseñanzas y chascarros de terreno.*

*A Rodrigo Palma a la distancia, por enseñarme a los bioindicadores y ser un gran jefe de práctica profesional.*

*A mis amigos, compañeros de la vida y del carrete,*

*A la Paolaisaura, mi Maña, Luci y Pato, Campesina, Chancha pigi, por su gran ayuda en los muestreos, identificación de bichos, capacitación, materiales, alegrías y accesorios.*

*Este es mas bien un saludo a toda mi generación del 2001 que tengo muy gratos recuerdos de compartir los años de Universidad con todos ellos: La Evelynchipiripipa, Cintiafafundez, la Guely, Joy salvovidas, Pameluchis, Matute, Panda, Davik, los pingüinos del desierto pfff, mis amigos los ñoños, Valparaíso Ñ!, etc.*

*Para todas esas personas + especiales aún, que están por ahí mencionadas o dando vueltas en otros sitios, que quiero mucho, gracias totales.*

## RESUMEN

Se evaluó la calidad del agua del estero Limache, en un sector de descarga de un efluente de aguas domésticas tratadas. Se establecieron cinco estaciones de muestreo, dos antes de la descarga, una en el área de descarga, una aguas abajo de la descarga y otra en el estero Lliu Lliu. En cada estación se determinó "in situ" temperatura, oxígeno disuelto, conductividad y sólidos disueltos totales; además, se recolectaron muestras de aguas para el análisis de fósforo total, nitrógeno total, DBO<sub>5</sub> y la realización de ensayos de toxicidad con la microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. Asimismo, en cada estación se recolectaron muestras de macroinvertebrados acuáticos. Los resultados muestran un incremento en el fósforo total, nitrógeno total, DBO<sub>5</sub> y conductividad en las estaciones con mayor actividad agrícola y en la zona de descarga del efluente, mostrando una recuperación de la calidad del agua aguas abajo de la descarga. Similares resultados se observó en las respuestas biológicas analizadas, donde hubo una disminución en los parámetros comunitarios de macroinvertebrados e inhibición de la tasa de crecimiento de la microalga en dichos sectores. De acuerdo a los índices biológicos de calidad las aguas del estero en el sector de descarga se clasificaron de regular a muy malo. Se registraron un total 33 familias de macroinvertebrados, con un alto porcentaje de abundancia de Dugessidae (27 %) y Oligochaetos (19 %), siendo predominantes también los Chironomidae y Physidae. La tendencia a mejorar la calidad de las aguas, luego del efluente de la planta de tratamiento se expresó en correlaciones significativas ( $p < 0,05$ ) positivamente para el *ChIBF* con la conductividad eléctrica ( $r^2 = 0,85$ ) y SDT ( $r^2 = 0,85$ ); y negativamente para la tasa de crecimiento  $k$  de *P. subcapitata* con el fósforo total ( $r^2 = 0,86$ ). Entre el *ChIBF* y  $k$  existe una buena correspondencia ( $r^2 = 0,73$ ) con un  $p = 0,06$ . La integración de estos resultados incrementa la importancia de incorporar el uso de bioindicadores y bioensayos de toxicidad para determinar y evaluar la calidad de aguas superficiales afectadas por descargas urbanas e impactos ambientales asociados a éstas. Además la clasificación de calidades de agua mediante estos instrumentos, puede ayudar a la toma de decisiones de definición en las estrategias de restauración y conservación de las cuencas hidrográficas para el continuo biomonitoreo.

Palabras clave: Calidad de agua, macroinvertebrados bentónicos, Toxicidad, *P. subcapitata*, Biomonitoreo.

## ABSTRACT

The water quality of the Limache stream was evaluated in a domestic effluent discharge spot. Five sample stations were established: two upstream from the discharge; one in the area of discharge; one downstream from the discharge, and one in Lliu Lliu stream. In each station temperature, oxygenate dissolved, conductivity and dissolved solids total were measured "in situ". In addition, water samples were taken for the analyses of total phosphorus, total nitrogen, and biological demand of oxygen. Bioassays of toxicity with the microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* were also made. Moreover, samples of benthic macroinvertebrates were recollected in each station. Results show an increase in phosphorus, nitrogen, biological demand of oxygen and conductivity which was observed in the stations with greater agricultural activity and in the zone of discharge of the effluent, recovering the quality of water downstream. Similar results were observed in the macroinvertebrates communities parameters, where a decrease of the diversity of species and inhibition of the rate of growth of the microalga was observed. According to the biological index of quality the waters of the matting in the unloading sector were classified within the range of "regular" to "very bad". A total 33 families of macroinvertebrates was registered, with a high percentage of abundance of Dugessidae (27%) and Oligochaetos (19%), being predominant also the Chironomidae and Physidae. The tendency to improve the quality of waters, after the effluent of the treatment plant express in significant correlations ( $p < 0,05$ ) positively for the *ChIBF* with electrical conductivity ( $r^2 = 0,85$ ) and SDT ( $r^2 = 0,85$ ); and negatively for the rate of subcapitata growth  $k$  of *P.* with total phosphorus ( $r^2 = 0,86$ ). Between *ChIBF* and  $k$  a good correspondence ( $r^2 = 0,73$ ) with  $p$  exists = 0,06. Integration of these results increases the importance of incorporating the use of bioindicadores and bioassays of toxicity to determine and to evaluate the quality of superficial waters affected by urban discharges and associated environmental impacts to these. Moreover, classification of qualities of water by these tools can help to the decision making of definition in the strategies of restoration and conservation of the watersheds for the continuous biomonitoring.

Key words: Water quality, Benthic macroinvertebrates, Toxicity, *P. subcapitata*, Biomonitoring.

# INDICE

<b>INDICE DE CONTENIDOS</b>	<b>Página</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	2
<b>2. MARCO TEÓRICO</b>	4
2.1. Evaluación de la calidad biológica de las aguas	4
2.2. El concepto de bioindicador	6
2.3. Macroinvertebrados acuáticos bentónicos	8
2.4. Índices bióticos y de diversidad	10
2.5. Ecología de aguas corrientes	12
2.6. Bioensayos de toxicidad en agua con especies de microalgas	14
2.7. Planta de tratamiento de aguas servidas, Maitenes Alto, Limache	16
2.8. Legislación vigente a nivel nacional	17
2.9. Institucionalidades públicas vinculadas	18
2.10. Fauna acuática del estero Limache	19
<b>3. PROBLEMA</b>	20
<b>4. OBJETIVOS</b>	21
4.1.- Objetivo General	21
4.2.- Objetivos específicos	21
<b>5.- MATERIALES Y MÉTODOS</b>	22
5.1. Área de estudio	22
5.1.1. Criterios de selección y localización de las estaciones de muestreo	23
5.1.2. Descripción de la vegetación y hábitat	24
5.2. Parámetros fisicoquímicos	25
5.3. Macroinvertebrados	26
5. 4. Índices biológicos	27
5.4.1. Índice Biótico de familias (IBF; Hilsenhoff, 1988)	27
5.4.2. Índice Iberian Biological Monitoring Working Party (IBMWP; Alba-Tercedor, 1996)	29
5.4.3. Índice Stream Invertebrate Grade Number-Average Level 2 (SIGNAL 2; Chessman, 2003)	30
5.5. Bioensayos	32
5.6. Análisis de datos	34
<b>6. RESULTADOS</b>	35
6.1. Descripción de la vegetación y hábitat de las estaciones de muestreo	35
6.2. Determinación de las variables físicas y químicas del agua	41
6.3. Comparación de los datos físico-químicos con la normativa vigente	42

---

6.4. Macroinvertebrados como bioindicadores de calidad del agua	43
6.4.1. Análisis comunitario	43
a) Composición y riqueza taxonómica	43
b) Abundancia y biomasa	44
c) Índices de diversidad	48
d) Análisis de agrupación	49
e) Aplicación de Índices Bióticos	51
- Índice Biótico de Familias (modificado de Hinselhoff, 1988; <i>ChIBF</i> ):	51
- Biological Monitoring Working Party (modificado de: Alba-Tercedor, 1996; <i>ChBMWPP</i> ):	52
- Índice Stream Invertebrate Grade Number-Average Level 2 (SIGNAL 2; Chessman, 2003)	53
f) Análisis comparativo	54
6.5. Determinación de la toxicidad de las aguas a través del bioensayo	55
6.6. Relación entre los índices biológicos y los parámetros físico-químicos	57
6.7. Relación entre el bioensayo y los índices bióticos	57
6.8. Evaluación integral de la calidad del agua del estero Limache	59
<b>7. DISCUSION</b>	61
<b>8. CONCLUSIONES</b>	68
<b>9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	70
<b>10. ANEXOS</b>	78

---

<b>INDICE DE TABLAS</b>	<b>Página</b>
Tabla 1 - Características del afluente de la PTAS	16
Tabla 2 - Calidad del agua en el efluente final	16
Tabla 3 - Sitios para la Conservación Regional de la Diversidad Biológica para la V región	18
Tabla 4 - Principales características de la cuenca del estero Limache	23
Tabla 5 - Valores de tolerancia para macroinvertebrados bentónicos dulceacuícolas, para ríos de Chile mediterráneo <i>ChIBF</i>	28
Tabla 6 - Puntuaciones asignadas a las diferentes familias de macroinvertebrados acuáticos para ríos de Chile mediterráneo <i>ChBMWP</i>	29
Tabla 7 - Factor de peso asignado según número de individuos hallados en la muestra	30
Tabla 8 - Valores de tolerancia de macroinvertebrados acuáticos utilizados en la determinación de SIGNAL 2 (Chessman, 2003)	31
Tabla 9 - Clases de calidad ambiental para la aplicación de los índices y determinación del grado de contaminación orgánica	32
Tabla 10 - Parámetros físico-químicos del agua en las cinco estaciones de muestreo	41
Tabla 11 - Clasificación de clases de calidad para las estaciones de muestreo, de acuerdo a los niveles de parámetros físico químicos establecidos por la Norma Chilena de Protección de las Aguas Superficiales (DC87/01)	42
Tabla 12 - Familias de macroinvertebrados (> 250 µm) registrados en el área de estudio.	43
Tabla 13 - Composición específica, abundancia y biomasa de los macroinvertebrados acuáticos recolectados en la campaña de muestreo abril 2006	45
Tabla 14 - Índices comunitarios y de diversidad	48
Tabla 15 - Matriz de similitud para macroinvertebrados acuáticos	49
Tabla 16 - Clasificación de calidad de agua según el índice <i>ChIBF</i>	51
Tabla 17 - Clasificación de calidad de agua según el índice <i>ChBMWP</i>	52
Tabla 18 - Clasificación de calidad de agua según el índice SIGNAL 2	53

---

Tabla 19 - Comparación del resultado de los índices para cada estación	54
Tabla 20 - Matriz de correlación Pearson	54
Tabla 21 - Correlación de Pearson entre los índices bióticos y las variables fisicoquímicas	57
Tabla 22 - Correlación de Pearson entre las principales variables	60

<b>INDICE DE FIGURAS</b>	<b>Página</b>
Figura 1 - Modelo conceptual sobre las relaciones tróficas entre los invertebrados de los ecosistemas lóticos	13
Figura 2 - Ictiofauna nativa del estero Limache	19
Figura 3 - Ictiofauna introducida del estero Limache	19
Figura 4 - Ubicación general de la cuenca del estero Limache (V Región)	22
Figura 5 – Nombre y localización de las estaciones de muestreo en el área de estudio	24
Figura 6 - Captura de macroinvertebrados con red Surber	26
Figura 7 – Identificación de macroinvertebrados en laboratorio	26
Figura 8 – Matraces Erlenmeyer inoculados con la microalga	33
Figura 9 – Vista en microscopio de <i>P. subcapitata</i>	33
Figura 10 - Vista general de la estación E1, sector Las Palmas	36
Figura 11 - Vista general de la estación E2, sector Lo Gamboa	37
Figura 12- Vista general de la Estación E3, sector efluente planta de tratamiento aguas servidas	38
Figura 13 - Vista general de la Estación E4, sector Puente Limache	39
Figura 14 - Vista general de la Estación T1, sector Puente Lo Chaparro (Lliu-Iliu)	40
Figura 15 - Abundancia porcentual de familias de macroinvertebrados en el estero Limache	46
Figura 16 - Abundancias y orden-familia más representativo por estaciones	46
Figura 17 - Biomasa porcentual de familias de macroinvertebrados en el estero Limache	47
Figura 18 - Biomasa y orden-familia más representativo en peso por estaciones	47
Figura 19 - Dendrograma de similitud entre estaciones de muestreo y orden-familia dominante	50
Figura 20 - Mapa de calidad de aguas en los sitios de muestreo.	51

---

Representación del ChIBF y la variabilidad espacial de la riqueza específica (R.E.) en el estero Limache.	
Figura 21 - Mapa de calidad de aguas en los sitios de muestreo. Representación del Índice ChBMW P y la variabilidad espacial de la riqueza específica (R.E.) en el estero Limache.	52
Figura 22 - Mapa de calidad de aguas en los sitios de muestreo. Representación del Índice SIGNAL 2 y la variabilidad espacial de la riqueza específica (R.E.) en el estero Limache.	53
Figura 23 - Curva de crecimiento para <i>P. subcapitata</i> durante el bioensayo	55
Figura 24 - Tasa de crecimiento $k$ de la microalga <i>P. subcapitata</i> a las 96 horas en el grupo control y experimental. * Diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).	55
Figura 25 - Porcentaje de inhibición de la tasa de crecimiento $k$ a las 96 horas	56
Figura 26 - Correlación entre el % Inhibición de la tasa de crecimiento ( $k$ ) de <i>P. subcapitata</i> con los índices: a) ChIBF ( $p = 0,06$ ), b) ChBMW P y c) SIGNAL 2 ( $p > 0,05$ )	58
Figura 27 - Mapa de calidad de aguas, variabilidad espacial en el porcentaje de inhibición en la tasa de crecimiento ( $K$ ) de <i>P. subcapitata</i> (% INH. ( $K$ )) y del Índice Biótico de Familias (ChIBF), en el estero Limache	59

---

“MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS COMO BIOINDICADORES DE CALIDAD DE AGUA; RESPUESTA AL FUNCIONAMIENTO DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO EN EL ESTERO LIMACHE, V REGIÓN, VALPARAISO”

## 1. INTRODUCCIÓN

El creciente deterioro de los cuerpos de agua dulce, ha conducido al desarrollo de normas de calidad de aguas superficiales para la protección de las comunidades acuáticas. Estas se basan en la determinación de concentraciones máximas permisibles de agentes químicos individualmente. Sin embargo, estas normas, no permiten determinar el efecto que estos contaminantes pueden tener sobre los organismos acuáticos (Norris & Hawkins, 2000; Figueroa et al., 2003). Por ello se ha propuesto el uso de herramientas biológicas como bioindicadores y bioensayos de toxicidad para determinar la calidad de los cuerpos de agua superficiales (CONAMA, 2001; O' Farrel et al., 2002; Oscoz, 2006; Antunes et al., 2006).

El uso de bioindicadores como los macroinvertebrados bentónicos de agua dulce para la evaluación de la calidad de las aguas, ofrece múltiples ventajas tales como: la presencia en la mayoría de los sistemas acuáticos continentales, la naturaleza sedentaria de los organismos, la simplicidad metodológica y una alta confiabilidad. Lo que hace de estos métodos una herramienta idónea para la vigilancia rutinaria de la calidad del agua en las cuencas y ríos en general (Armitage et al., 1983; Alba-Tercedor & Sánchez-Ortega, 1988; Hilsenhoff, 1988; Rosenberg & Resh, 1993; Figueroa et al., 2003).

Los bioensayos de toxicidad han sido estandarizados por agencias internacionales de protección ambiental (USEPA, 1994; ISO, 1989). Entre estas pruebas destaca las que se realizan con productores primarios, los cuales son claves en la estructura y funcionamiento de los sistemas acuáticos, por lo que cualquier efecto negativo sobre ellos afectará los niveles tróficos superiores primarios (Zanuzzi et al., 2001). Algunas microalgas son consideradas modelos de estudio para la realización de bioensayos de toxicidad, debido a que presentan alta sensibilidad a diversas sustancias químicas, sus requerimientos nutricionales son conocidos, poseen una alta tasa de crecimiento que permite conocer en pocos días la densidad y el efecto causado por el agente tóxico y su manipulación es relativamente sencilla en laboratorio (Castillo & Vila, 2000; O' Farrel et al., 2002).

La descarga de efluentes domésticos a los cuerpos de agua puede afectar las comunidades de organismos acuáticos, debido a la presencia de agentes potencialmente tóxicos. Para mitigar los efectos negativos de estas descargas, los residuos líquidos son tratados previamente, reduciendo la carga orgánica y microbiológica que es vertida directamente a los cuerpos acuáticos (Habit et al., 2005). Por esto, es esperable que los sistemas receptores presenten una mejor condición ecológica en comparación a los sectores en que las descargas de vertidos siguen sin tratar.

El estero Limache ubicado en la quinta Región (Chile central), se caracteriza por el uso múltiple de sus aguas (agrícola, recreativo, urbano/rural), debido a lo cual recibe la descarga de contaminantes tanto de fuentes puntuales como difusas. Actualmente, recibe la descarga de una planta de tratamiento de aguas domésticas que sirve a una población de 3.600 habitantes, recibiendo una carga diaria de 0,162 Ton DBO<sub>5</sub>/día (Manantial Chile S.A., 2001). Es importante destacar que el estero Limache está considerado en la estrategia regional para la conservación de la biodiversidad en categoría uno (CONAMA, 2005). Este estero se caracteriza por presentar doce especies de peces de las cuales cinco son especies nativas (Baeza, 1998). Esto plantea la necesidad de conocer la actual calidad del agua del estero Limache, lo que motiva esta investigación, específicamente en un sector donde descarga el efluente doméstico de una planta de tratamiento de la comuna.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Evaluación de la calidad biológica de las aguas**

Calidad biológica del agua es un concepto relativo, ya que depende del destino final del curso de agua (directamente relacionado con el uso del recurso) y lo que se desee proteger en el ambiente natural que sustenta. Este término surge al evaluar la calidad de las aguas mediante el estudio de la composición y estructura de comunidades de organismos. Se considera que un medio acuático presenta una buena calidad biológica cuando tiene características naturales que permiten que en su seno se desarrollen las comunidades de organismos que le son propias (Alba-Tercedor, 1996).

La evaluación del recurso agua tradicionalmente se ha basado en análisis fisicoquímicos, pero en la actualidad se ha complementado con el biomonitoreo, el cual utiliza una entidad biológica como indicador de contaminantes y su respuesta como una herramienta que permite detectar condiciones ambientales específicas (USEPA, 2003).

Los análisis fisicoquímicos que se utilizan para la calificación del estado de los sistemas acuáticos son más precisos en valor absoluto proporcionando las características de la fuente contaminante que nos ayuda a interpretar la calidad del agua para la vida fluvial, no obstante, éstas pueden tener grandes fluctuaciones en períodos cortos de tiempo, e informan sólo de las variables medidas en el período de muestreo concreto. Frente a ello, el control biológico proporciona una visión integral, retrospectiva y extendida en el tiempo sobre la calidad del agua. Los organismos presentes en el sistema acuático analizado, tienen ciclos biológicos más o menos largos, y su presencia demuestra la continuidad de unas condiciones ambientales determinadas que se habrían mantenido a lo largo del tiempo, como mínimo el tiempo de su ciclo biológico (Alba-Tercedor, 1996). De este modo, los organismos encontrados en el medio analizado, junto con el conocimiento de las condiciones mínimas que cada uno de ellos puede soportar y la comparación con las comunidades existentes en estado natural o sin perturbar, nos aportan información sobre la calidad del sistema o el grado de afección que soporta el ecosistema (Newman et al., 1992).

A nivel nacional el término de calidad biológica de las aguas, se encuentra enmarcado dentro de las definiciones y variables consideradas en la Norma Secundaria de Calidad Ambiental para la Protección de las Aguas Continentales Superficiales DC 87/01 (en

trámite) y la Norma Chilena Oficial Requisitos de calidad del agua para diferentes usos Nch1.333/Of78, modificada en 1987.

A partir de este contexto surge la utilización de índices bióticos para determinar la calidad del agua, debido a que tienen la característica de almacenar más información histórica, ya que, los vertidos esporádicos producen cambios cualitativos y una disminución en el número de especies; necesitando el medio acuático tiempo para ser recolonizado por las mismas especies. Este tipo de metodología se basa en el conocimiento de cómo responden las comunidades biológicas a las distintas perturbaciones que las actividades humanas infieren al medio acuático (Villalobos, 2001). La tolerancia o nivel de respuesta de los organismos que componen el bentos, difiere según el tipo de contaminante a que han sido expuestos, lo que determina que ciertos organismos sean utilizados como bioindicadores (Figueroa, 2004).

## 2.2. El concepto de bioindicador

Un bioindicador utilizado en la evaluación de calidad del agua, es definido como: “especie” (o ensamble de especies) que posee requerimientos particulares con relación a uno o un conjunto de variables físicas o químicas, tal que los cambios de presencia /ausencia, número, morfología o de conducta de esa especie en particular, indique que las variables físicas o químicas consideradas, se encuentran cerca de sus límites de tolerancia” (Rosemberg & Resh, 1993). En otros términos, la simple presencia del organismo aporta información de las características y estado de salud de un sistema fluvial.

En la actualidad, los sistemas de biomonitoreo buscan minimizar la diferencia entre el esfuerzo y la eficiencia de los resultados para disminuir el tiempo de obtención y procesamiento de muestras. Por ello, las metodologías y los protocolos de monitoreo rápido están adquiriendo cada vez más importancia en los programas de control de contaminación acuática en diferentes países industrializados (Barbuor et al. 1996). La utilización de diferentes grupos de organismos e índices biológicos permite también obtener unos resultados mucho más fiables, así como interpretarlos mejor (Karr, 1999). Por ello, se recomienda el estudio conjunto de los macroinvertebrados, las comunidades fitobentónicas y los peces, y de otros elementos fundamentales en el funcionamiento de los ecosistemas fluviales como el bosque de ribera, o la calidad estructural del hábitat fluvial.

Varios países de todo el mundo utilizan bioindicadores para el análisis del estado de salud de los respectivos sistemas hídricos, sobre todo ríos, aunque, en la mayoría de los casos, estas herramientas no tienen carácter normativo. En Europa, sobre todo después de la aprobación de la Directiva Marco del Agua (DMA), en América del Norte, en Sudáfrica y en Australia, se trabaja intensamente en el desarrollo de sistemas de monitoreo para la calificación del estado ecológico de los sistemas acuáticos de manera integral (Verdonschot, 2000), y son las administraciones de diversos ámbitos, tanto local como de cuenca o gubernamentales, que desarrollan y aplican hace años sistemas de monitoreo basados en bioindicadores (Metcalf, 1989; Diamond et al., 1996). De hecho, en los últimos años, se han abierto diferentes foros de debate sobre cuál sería el mejor método para calificar la salud de los sistemas fluviales, en los que se destaca, de una

manera más o menos colectiva, la necesidad de establecer unas estaciones o situaciones de referencia a partir de las que, comparándolas con los datos obtenidos en cada muestreo, se pueda establecer la medida de la calidad del sistema (Reynoldson et al., 1997; Wallin et al., 2002; Figueroa, 2004). De todas maneras, el sistema y procedimiento a utilizar para calcular la calidad, tanto de las estaciones de referencia como de las que medimos, es aún un tema abierto donde cada país utiliza su propio sistema.

### **2.3. Macroinvertebrados acuáticos bentónicos**

El término macro invertebrados acuáticos se refiere a la fauna de organismos sin vértebras que se pueden ver a simple vista (>0,5 mm) y que viven en los lugares con agua dulce: esteros, ríos, lagos y lagunas. Los organismos bentónicos son aquellos que habitan los fondos de dichos sistemas adheridos a piedras, rocas, troncos, restos de vegetación y sustratos similares (Figuroa & Araya, 2001; Carrera & Fierro, 2001). Además de cumplir funciones como eslabones tróficos intermediarios y transformar la materia orgánica alóctona para integrarla al ecosistema; estos animales proporcionan excelentes señales sobre la calidad del agua, y, al usarlos en el monitoreo, se puede entender claramente el estado en que ésta se encuentra: algunos de ellos requieren agua de buena calidad para sobrevivir; otros, en cambio, resisten, crecen y abundan cuando hay contaminación. Debido a que presentan ventajas respecto a otros componentes de la biota acuática, Rosemberg & Resh (1993) los considera idóneos como bioindicadores ya que se destacan las siguientes características:

- a) Están presentes en casi todos los sistemas acuáticos continentales, lo cual posibilita realizar estudios comparativos.
- b) Están relativamente inmóviles y sedentarios, lo que permite un análisis espacial de los efectos de las perturbaciones en el ambiente.
- c) Los muestreos cuantitativos y análisis de muestras se realizan con equipos sencillos y de bajo costo.
- d) La disponibilidad de métodos e índices para el análisis de datos, los que han sido validados en diferentes ríos del mundo.

Por otro lado la taxonomía de los grupos mayores está bien estudiada y se dispone de claves para la identificación de taxa y su consulta a especialistas, para obtener resultados a nivel de familia. También existen numerosos métodos para el análisis de datos (índices bióticos y de diversidad) desarrollados y utilizados en biomonitoreo a nivel comunitario.

Sin embargo, también deben considerarse ciertos inconvenientes, muchas veces omitidos que señala Figueroa (2004), tales como: (1) los muestreos cuantitativos requieren de un gran número de réplicas, lo que puede resultar en problemas de costos y tiempo (gran esfuerzo de trabajo de laboratorio); (2) pueden existir otros factores independientes a la calidad del agua que afectan la distribución y abundancia (e.g. perturbaciones por cambios de caudales manejados artificialmente, catástrofes naturales por inundación, etc.); (3) las variaciones estacionales pueden complicar las interpretaciones o comparaciones; (4) la disposición de algunos invertebrados a derivar les proporciona algunas ventajas sobre aquellos menos móviles; (5) ciertos grupos no son bien conocidos taxonómicamente (con carencia de especialistas locales como es el caso en Chile) y; (6) los macroinvertebrados bentónicos no son siempre sensibles a ciertas perturbaciones como patógenos humanos y cantidades trazas de algunos contaminantes, aunque estudios recientes han demostrado los efectos de toxicidad crónica de compuestos en bajas concentraciones y de entradas puntuales.

Además, se considera que un organismo es un buen indicador de calidad del agua cuando éste se encuentra invariablemente en un ecosistema de características definidas y cuando su población es porcentualmente superior, o ligeramente similar, al resto de los organismos con los que comparte el mismo hábitat. Así, por ejemplo, en ríos de montaña de aguas frías, transparentes, oligotróficas y bien oxigenadas se espera encontrar poblaciones dominantes de efemerópteros, tricópteros y plecópteros, pero también se espera encontrar odonatos, coleópteros, hemípteros, dípteros, neurópteros y otros grupos menores en bajas proporciones.

Por el contrario, en ríos y quebradas que están siendo contaminadas con materia orgánica, de aguas turbias, con poco oxígeno y eutrofizadas, se espera encontrar poblaciones dominantes de oligoquetos y quironómidos, aunque ocasionalmente pueden hallarse algunos pocos individuos que se consideran indicadores de aguas limpias. En situaciones intermedias, o sea, en aguas que comienzan a mostrar síntomas de contaminación, o por el contrario, que comienzan a recuperarse, es común encontrar poblaciones dominantes de turbelarios, hirudíneas, quironómidos y oligoquetos, mezclados en menor proporción con ciertos efemerópteros y tricópteros (Roldan, 2003).

## 2.4. Índices bióticos y de diversidad

Los métodos que consideran a macroinvertebrados bentónicos para determinar calidad de agua, han sido usados en Europa desde principios del siglo XX. Muchos de ellos tiene sus orígenes en trabajos desarrollados por Kolkwitz & Marsson (1909).

Entre los índices más ampliamente aplicados se pueden mencionar los siguientes: Trent Biotic Index (TBI); Biological Monitoring Working Party (BMWP) de Armitage et.al. (1983); Biological Monitoring Working Party (BMWP') adaptado y modificado a la fauna del sur occidente Colombiana por la Universidad del Valle (Domínguez & Fernández, 1998) utilizado en el río de Tucumán Argentina, el índice EPT (Ephemeroptera, Plecóptera y Trichoptera) de Carrera & Fierro (2001) aplicado en el río Angosturita en Argentina, el método SIGNAL 2 versión modificada por Chessman en el 2003 (originalmente desarrollado en 1993 para su uso en el Río Hawkesbury-Nepean cercano a la ciudad de Sydney, especialmente para evaluar los impactos de descargas de las plantas de tratamiento de aguas residuales), y el Índice Biótico de Familia el cual fue desarrollado por Chutter (1972) para ríos de Sudáfrica y levemente modificado por Hilsenhoff (1988) para ser utilizado en ríos de Norteamérica, con el nombre Índice Biótico de Familias (IBF). Este último es un índice, que trabaja sobre la base del tipo de familias presentes en un tramo de un río, un puntaje asignado a cada familia en función a su sensibilidad a la contaminación y el número de morfoespecies existentes en cada familia. Dada la simplicidad en la estimación de este índice debido a su bajo nivel de resolución taxonómica y su adecuada correlación con factores estresores antropogénicos (contaminación química, cambios del sustrato por remoción incremento de materia orgánica, etc.), en la actualidad ha sido ampliamente utilizado en distintas partes del mundo (DeWalt et al., 1999; Maxted et al., 2002; Whiles et al., 2000), presentando una gran potencialidad para su uso en Chile en materia de fiscalización por parte de algún organismo público para evaluar la calidad del agua de una cuenca hidrográfica determinada.

Dentro de este argumento, podemos mencionar que en Chile, la aplicación del IBF para determinar la calidad del agua, se ha desarrollado en la cuenca del río Damas (X Región) (Figuroa, 1999), en donde se determinó además de la composición taxonómica de la cuenca, la relación entre los puntajes obtenidos del IBF y las variables físico químicas, a través de análisis de correlación. En relación a estudios de descripción taxonómica se puede mencionar al río Bíobío (VIII Región) considerado uno de los ríos más estudiados

de Chile donde se encuentra descrito el macrozoobentos en forma detallada (Valdovinos et al., 1993; Arenas, 1993).

Así como también, en la subcuenca del río Traiguén (Weisser, 2003) y en el estero Peupeu (Leiva, 2004) de la IX región, se utilizó este índice biótico para determinar calidad de agua, aplicándose de manera complementaria los índices EPT, BMWP y BMWP', con el objetivo de comparar lo obtenido con el IBF y observar las similitudes entre los índices bióticos aplicados en la hoya.

En la V región, se han realizado escasos estudios de determinación de calidad biológica de aguas. En el estero Quintero (Bustos & Valencia, 2006) se aplicó el IBF como parte de la zonificación de una microcuenca; y en un tramo del río Aconcagua (Martínez, 2005), se trabajó con metodología de sustrato artificial y evaluación rápida de calidad de aguas mediante el método SIGNAL 2 y BMWP' comparando sus aplicaciones.

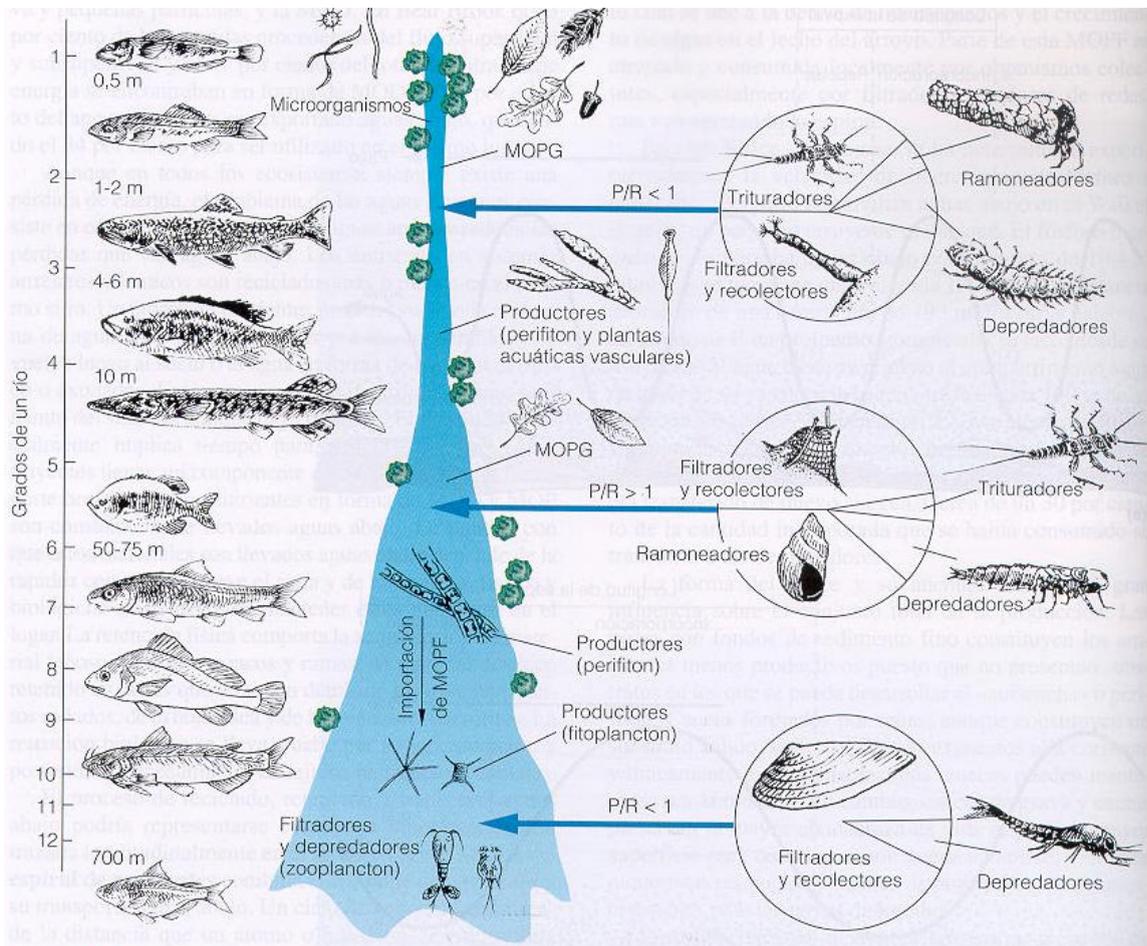
## 2.5. Ecología de aguas corrientes

Los ríos se consideran como sistemas unidos longitudinalmente en los que los procesos que se dan a nivel ecosistema en los tramos bajos son consecuencia de aquellos producidos en los tramos altos, teoría del "Continuo Fluvial" (Vannote et al., 1980). En esta teoría se analiza la materia orgánica como principal fuente de energía, y los grupos funcionales que la aprovechan en función de su estado, produciéndose una sucesión continua de especies a lo largo del río; resultado de la zonación longitudinal de un tipo de partícula de alimento (Cummins & Klug, 1979).

Los arroyos de cabecera son fuertemente heterotróficos y dependen de las entradas de materiales detríticos procedentes de los ecosistemas terrestres adyacentes. Energía alóctona: la mayor fuente de energía pareciera provenir desde afuera del sistema (e.g. árboles caídos, hojas, materia orgánica muerta) la cual es aprovechada por la macrofauna y microfauna existente en el lugar, no solo como alimento, sino que también como sitios de refugios y de colonización por parte de la macrofauna existente. Los consumidores dominantes son los trituradores y los filtradores y los recolectores. A medida que el arroyo incrementa su tamaño, una parte más importante de entrada de energía: energía autóctona se debe a la producción primaria de las algas y macrófitos acuáticos; fotosíntesis de plantas acuáticas y del plancton microscópico. Los principales consumidores son entonces los filtradores y recolectores y los ramoneadores. A medida que los arroyos crecen se convierten en ríos, el sistema lótico vuelve a la heterotrofia, y puede desarrollarse una comunidad planctónica. La mayor parte de los consumidores son colectores que viven en los sedimentos del lecho del río (Fig.1).

Así, vemos que la deriva de macroinvertebrados bentónicos en la columna de agua está estrechamente vinculada a la disponibilidad de nuevos hábitats y de variables tales como el alimento (detritus y/o materia orgánica), perifiton (incluye bacterias, hongos, larvas y ninfas de insectos y especialmente algas del tipo de las diatomeas y clorófitas), pero como ya se ha mencionado el principal factor es el sustrato por ser el medio físico inmediato para la colonización. Esta deriva de organismos en la columna de agua resulta ser una fuente importante de energía para otros de mayor tamaño como los peces, los cuales se ven directamente beneficiados al aprovechar este mecanismo de colonización y obtener parte importante de su estrategia dietaria, sobretodo en las etapas juveniles, dado que los adultos incluyen como parte importante de su alimento a otros peces más

pequeños, además de las larvas de los insectos que derivan. Variados estudios de relaciones tróficas de peces en nuestro país confirman esto último (e.g. Campos et al., 1984; Palma et al. 2002).



**Figura 1** - Modelo conceptual sobre las relaciones tróficas entre los invertebrados de los ecosistemas lóticos

## **2.6. Bioensayos de toxicidad en agua con especies de microalgas**

Los aportes de materia orgánica por encima del nivel de carga tolerable para cada ambiente acuático modifican la composición físico-química natural del agua, lo que a su vez genera como consecuencia un incremento en la productividad primaria originada por las microalgas componentes del fitoplancton.

La liberación de sustancias tóxicas en los ecosistemas acuáticos produce una gran variedad de respuestas complejas en los organismos: adición, inhibición, bioacumulación y biomagnificación, afectando a las poblaciones o comunidades existentes.

Considerando que un curso de agua superficial recibe una gran diversidad de agentes químicos, es difícil determinar en esa mezcla, a través de los análisis físico-químicos tradicionales y rutinarios, las fracciones de esas sustancias que están disponibles para ejercer un efecto tóxico en el resto de los organismos. En la actualidad, se están utilizando los ensayos de toxicidad como métodos alternativos y complementarios para la caracterización de las aguas.

Los bioensayos se utilizan como herramienta técnica en el control y monitoreo de la contaminación ambiental, en programas de reducción de la toxicidad de efluentes industriales y evaluación de la toxicidad de productos puros, entre otros.

Estos ensayos de toxicidad tendrían que ser considerados indispensables en el control de la contaminación hídrica, ya que se fundamentan en la utilización de organismos vivos que son directamente afectados por los desequilibrios que eventualmente ocurren en los ecosistemas acuáticos donde viven. Los organismos son muy buenos para detectar condiciones ambientales complejas, considerándoselos como finos sensores de los cambios que operan en el medio. En el caso particular de las microalgas, el interés en obtener datos a partir de estos ensayos es que tales organismos integran un grupo de esencial importancia en los sistemas acuáticos, ya que constituyen la base de las redes tróficas como productores primarios. Por tal motivo, son un grupo clave desde el punto de vista funcional.

Una sustancia tóxica no necesita afectar directamente a los peces y otros animales acuáticos para impactar severamente sobre la salud de un sistema acuático, pero las

algas son más sensibles que los invertebrados y peces a varios detergentes, efluentes textiles, tinturas, herbicidas y a una variedad de otros componentes.

En las últimas dos décadas se han desarrollado protocolos internacionales estandarizados que cubren las exigencias científicas y prácticas para realizar ensayos de ecotoxicidad con microalgas. Estos protocolos son recomendados por la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OECD, 1984), legalmente requeridos por la Comunidad Europea, y utilizados rutinariamente por agencias de protección ambiental en países como Estados Unidos, Canadá, Francia y Alemania (Zanuzzi et al. 2001).

Así microalgas tales como *Pseudokirchneriella subcapitata* son consideradas modelos de estudio para la realización de bioensayos de toxicidad, debido a que presentan alta sensibilidad a diversas sustancias químicas, sus requerimientos nutricionales son conocidos, poseen una alta tasa de crecimiento que permite conocer en pocos días la densidad y el efecto causado por el agente tóxico y su manipulación es relativamente sencilla en laboratorio (Castillo & Vila, 2000; O' Farrel et al., 2002)

## 2.7. Planta de tratamiento de aguas servidas (PTAS), Maitenes Alto – La Paloma, Comuna de Limache.

Las aguas afluentes a la planta de tratamiento tienen la calidad de aguas servidas domésticas y no tiene aportes industriales, recibiendo una carga diaria de 0,162 Ton DBO<sub>5</sub>/día (Tabla 1) La tecnología para el tratamiento de las aguas es el sistema de Biodiscos. Éste es un proceso biológico de tipo aerobio y de película fija para el tratamiento secundario de las aguas residuales.

El principio básico del sistema de Biodiscos consiste en poner en contacto las aguas residuales con una población microbiana mixta, en forma de una película de lama adherida a la superficie de un medio sólido de soporte. La película se acumula sobre el medio de soporte parcialmente sumergido que gira sobre un eje horizontal, dentro de un tanque a través del cual fluyen las aguas residuales (Tabla 2).

**Tabla 1 – Características del afluente de la PTAS**

Parámetro	Unidad	Valor
Población saneada	hab	3600
Dotación	l/hab/d	200
Factor de recuperación	adimensional	0,85
Caudal medio de diseño	l/s	7,08
Caudal máximo de diseño	l/s	23,9
DBO <sub>5</sub> afluente	mg/l	265
Sólidos suspendidos totales	mg/l	265
Coliforme fecal agua cruda	NMP/100 ml	4 x 10 <sup>6</sup>

Fuente: Memoria Técnica Planta de Tratamiento de Aguas Servidas PMB Los Maitenes La Paloma, 2001.

**Tabla 2 - Calidad del agua en el efluente final**

Parámetro	Unidad	Valor
Demanda bioquímica de oxígeno, DBO <sub>5</sub>	mg/l	30
Sólidos suspendidos	mg/l	30
Aceites y grasas	mg/l	20
Coliformes	NMP/100 ml	1 x 10 <sup>3</sup>

Fuente: Memoria Técnica Planta de Tratamiento de Aguas Servidas PMB Los Maitenes La Paloma, 2001.

La descarga de las aguas servidas tratadas, se realiza mediante una tubería de descarga, al estero Pelumpén.

## 2.8. Legislación vigente a nivel nacional

El marco regulatorio chileno ofrece la oportunidad de fijarse ambiciosos objetivos en cuanto a calidad de aguas, gracias a las denominadas normas secundarias de calidad para aguas continentales que hoy se están empezando a implementar. Estas normas definen los estándares de calidad a mantener en las distintas cuencas del país: definiendo el objetivo y uso que se le va a dar a los diferentes tramos de los ríos. Así constituyen un instrumento indispensable para avanzar hacia una gestión adecuada de la calidad de nuestros recursos hídricos (Peña, 2005).

**Normas Secundarias para Aguas Continentales:** Estas normas apuntan a proteger y preservar los recursos hídricos, a partir del establecimiento de las calidades-objetivo en cada cuenca. Las clases u objetivos son cuatro: **De Excepción:** de extraordinaria pureza y escasez, corresponden a patrimonio ambiental de la República; **Clase 1:** muy buena; **Clase 2:** buena; **Clase 3:** regular.

Esta definición está dada de acuerdo al análisis de 61 parámetros reunidos en siete categorías: indicadores físicos y químicos, inorgánicos, orgánicos, plaguicidas orgánicos, metales esenciales disueltos, metales no esenciales disueltos e indicadores microbiológicos. Los bioensayos y los bioindicadores podrán ser utilizados en las normas secundarias como herramientas complementarias para determinar los impactos producidos sobre las comunidades acuáticas, los usos prioritarios y/o el estado trófico de los lagos, canales, fiordos y estuarios, entre otros. El objetivo que se pretenda alcanzar en cada cuenca está asociado a los usos que se podrá dar a los tramos de cuerpos de agua, los cuales pueden ir desde el aprovechamiento para necesidades básicas como la captación de aguas para potabilizarla, bebida para animales, recreación y riego, hasta la utilización industrial.

Además están en vigencia las normas de emisión, que en el marco de lo dispuesto en la Ley de Bases del Medio Ambiente (Ley 19.300 de 1994), permiten regular las descargas contaminantes provenientes de distintas fuentes. Entre éstas se puede mencionar:

**Norma Chilena Oficial NCh 1333 Of 78.** El Decreto N°867/78 del Ministerio de Obras Públicas, establece los requisitos de calidad del agua para diferentes usos (potable, bebida de animales, riego, recreación y estética, y vida acuática).

## 2.9. Institucionalidades públicas vinculadas

En primer lugar se debe mencionar que el Estero Limache ha sido considerado dentro de uno de los 56 Sitios de la Estrategia para la Conservación Regional de la Diversidad Biológica con prioridad 1, según lo establecido por la CONAMA de la V Región (Tabla 3).

**Tabla 3** - Sitios para la Conservación Regional de la Diversidad Biológica para la V región

<b>(i) Ecoregión Aguas Continentales</b>				
<b>(ii) Ecosistema Lóticos</b>				
<b>N° Iden.</b>	<b>Prioridad</b>	<b>Nombre del sitio</b>	<b>Observaciones</b>	<b>Comuna</b>
31	1	Esteros Mantagua		Sección 1.02
<b>32</b>	<b>1</b>	<b>Esteros Limache</b>		<b>Sección 1.03</b>
33	1	Esteros Casablanca		Sección 1.04
34	1	Esteros y Quebrada Quiteño de Las Palmas		Sección 1.05
35	1	Zona media Río La Ligua		Sección 1.06
36	2	Río La Ligua		Sección 1.07
37	2	Río Aconcagua		Sección 1.08

Fuente: CONAMA, 2005

Por otra parte se debe hacer énfasis en que el trabajo que se realiza en las cuencas se basa en las ocupaciones que la Dirección General de Aguas (DGA) viene desarrollando hace un par de años. Hasta fines del 2004 se trabajó fuertemente en recopilar la información de calidad de aguas que existe en el país. Ello permitió definir la línea de base para 33 cuencas prioritarias, así como determinar los usos que se está dando en cada una de ellas y evaluar los datos sobre calidad de agua y caudales. El proceso continúa con la identificación de cada tramo en los cuales pudiera subdividirse el análisis de los distintos ríos. Luego para cada tramo se establecen los parámetros a controlar y los objetivos a cumplir, de acuerdo al uso que se pretende dar al recurso. Con todos esos elementos se conforma una propuesta de norma. Aunque la idea parte por priorizar las cuencas principales, esto no excluye la necesidad de normar y caracterizar las calidades de agua para los cauces menores.

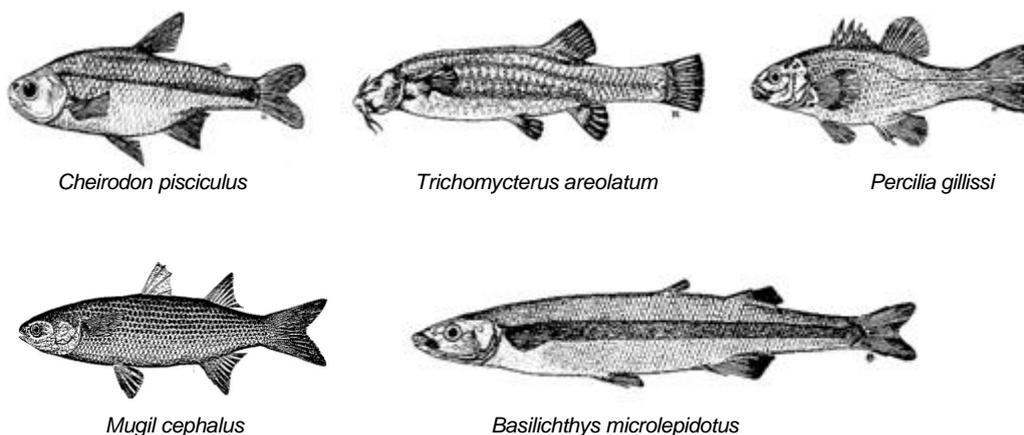
Además el Servicio Agrícola Ganadero (SAG), en conjunto con la CONAMA, cumplen importantes roles en la gestión y fiscalización de la calidad de las aguas superficiales continentales.

## 2.10. Fauna acuática del estero Limache

Según el documento de la DGA (2004), para el estero Limache se reconocen los taxones de macroinvertebrados más comunes: Chironomidae, Tipulidae, Culicidae (dípteros); Sp1 (efemeróptero), Hidroptilidae (tricóptero), Sp1 (oligoqueto) y Sp 1 (ostracoda).

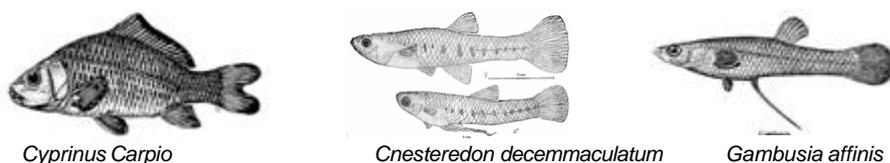
Según los antecedentes bibliográficos de Baeza (1998), la fauna íctica del estero Limache estaría constituida por doce especies, de las que se distinguen dos grupos (Fig. 2 y 3):

a) Fauna nativa: *Cheirodon pisciculus* (Pocha), *Trichomycterus areolatum* (Bagre), *Percilia gillissi* (Carmelita), *Mugil cephalus* (Lisa) y *Basilichthys microlepidotus*\* (Pejerrey de escama chica, Pejerrey chileno)



**Figura 2 -** Ictiofauna nativa del estero Limache

b) Fauna introducida: *Cyprinus carpio* (Carpa), *Cnesteredon decemmaculatum* (Gambusia manchada), *Gambusia affinis* (Gambusia), *Cichlasoma facetum* (Chanchito), *Carassius carassius*, *Salmo gairdnerii* y *Odontheistes bonariensis*.



**Figura 3 -** Ictiofauna introducida del estero Limache

\* Especie catalogada como en Peligro de Extinción según el Libro Rojo de Vertebrados de Chile

### **3. PROBLEMA**

El desarrollo de actividades agropecuarias, industriales y urbanas; han inducido la alteración de los ecosistemas acuáticos y el incremento de contaminantes tales como excesivos aportes de nutrientes. Consecuentemente, se hace imperioso contar con nuevas metodologías de monitoreo y seguimiento de la calidad de aguas con el fin de reducir costos de vigilancia periódica, agrupando un mayor número de análisis físico-químicos en tramos conflictivos y de este modo distribuir el gasto más eficazmente en los operativos de control y fiscalización que se ejecuten.

En Chile, la Norma Secundaria de Calidad Ambiental para las aguas, considera la utilización de bioindicadores y bioensayos como metodología complementaria para la evaluación de impactos y variaciones en la calidad de las aguas. Esto hace necesario aplicar y validar el uso de estas herramientas biológicas en los ecosistemas lóticos de nuestro país. En su mayoría estas herramientas han sido aplicadas en ríos de la zona centro sur de Chile; no obstante, para la realidad local se desconoce bastante del tema.

El estero Limache es un cuerpo de agua considerado en prioridad uno para la conservación regional de la diversidad biológica. Este estero recibe los aportes de la descarga del efluente de una planta de tratamiento de aguas domésticas, además es una cuenca en la que se realiza una intensa actividad agrícola. Esto podría estar afectando la calidad del agua lo que a su vez podría afectar negativamente a las comunidades acuáticas. De acuerdo con lo anterior, en esta investigación se ha propuesto evaluar la calidad de las aguas mediante índices bióticos y bioensayos de toxicidad. Se postula que si la descarga del efluente afecta la calidad del agua, esto se reflejaría en cambios en la estructura de la comunidad acuática de macroinvertebrados y en la respuesta de los productores primarios.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo General

- Evaluar la calidad de las aguas receptoras de la descarga de un efluente de una planta de tratamiento de aguas domésticas del estero Limache, a través de índices biológicos con comunidades de macroinvertebrados acuáticos y bioensayos de toxicidad.

### 4.2. Objetivos específicos

- Describir la vegetación y hábitat del área de estudio.
- Caracterizar físico y químicamente las aguas del estero Limache en las estaciones de muestreo.
- Caracterizar cuali y cuantitativamente la composición taxonómica de las comunidades de macroinvertebrados acuáticos en los sitios de muestreo y su relación con las otras variables.
- Aplicar índices de calidad de aguas basados en parámetros biológicos comunitarios a las aguas del estero Limache. Comparar la aplicación de los índices *ChIBF*, *ChBMWP*, SIGNAL 2.
- Determinar la toxicidad de las aguas del estero Limache, mediante el bioensayo con la microalga *P.subcapitata*.
- Elaborar un mapa de calidad de agua del estero Limache basado en los índices de calidad utilizados en este estudio.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Área de estudio

El estero Limache pertenece a la provincia de Quillota, V Región (Fig. 4). Su caudal se une al río Aconcagua por la ribera sur a 8 km del mar en Concón alto. Tiene cabeceras en la vertiente poniente de los cerros La Campana y el Roble y del cordón de la Dormida, donde se juntan los esteros Las Palmas, Quebrada Alvarado y Cajón de la Dormida con el nombre de Estero Pelumpén. Más abajo bisecta la ciudad de Limache y sigue al oeste casi paralelo al curso del río Aconcagua. Conformar una típica hoya de régimen pluvial. Una pequeña obra de regulación está emplazada en uno de sus principales afluentes, cual es el tranque Lliu-lliu. El desarrollo total del estero Limache desde el rincón más alejado es de 50 km y la superficie de la hoya drenada es de 573 km<sup>2</sup> (Niemeyer & Cereceda, 1984). Las principales características de la cuenca están descritas en la tabla 4.



**Figura 4** - Ubicación general de la cuenca del estero Limache (V Región)

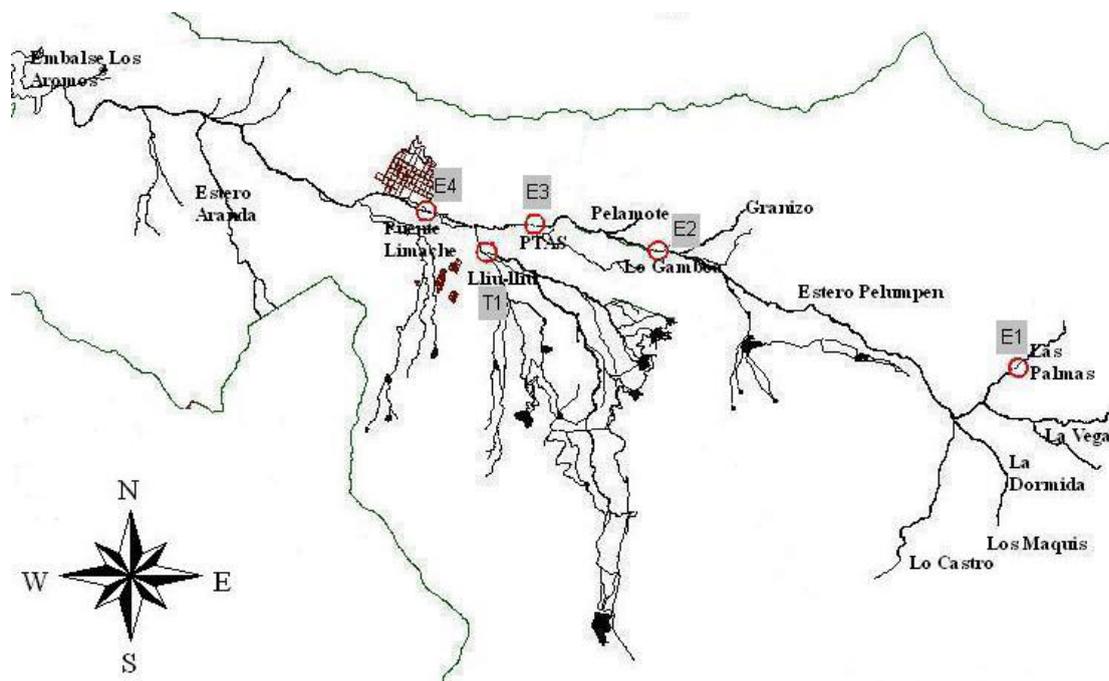
**Tabla 4** - Principales características de la cuenca del estero Limache

- Ubicación geográfica de la cuenca	33° 00' S, 71° 23' O
- Superficie de la cuenca	573 km <sup>2</sup>
- Longitud total	50 km
- Morfología del estero	Ritrones, alternado de rápidos y pozones.
- Geomorfología (unidades de relieve)	Interfluvio Aconcagua – Maipo, que marca el paso de la región de los valles transversales a la región del valle central. Sector precordillerano y planicies litorales.
- Régimen de alimentación	Pluvial
- Clima	Área de transición del clima semiárido al templado mediterráneo, o límite norte del clima mediterráneo*.
- Precipitaciones medias anuales	391,9 mm,
- Temperatura media anual	15,4° C.
- Nacimiento (origen del sistema fluvial)	Esteros Las Palmas, Quebrada Alvarado y Cajón de la Dormida
- Desembocadura	Río Aconcagua
- Principales usos del agua	Agua potable, riego, agricultura, receptor de desechos urbanos y rurales, recreación, extracción de áridos, bebida de animales.
- Principales usos de suelo	Terrenos agrícolas, áreas urbanas y rurales, praderas y matorrales, bosque.

\* De acuerdo a la clasificación climática de Koeppen

### 5.1.1. Criterios de selección y localización de las estaciones de muestreo

Los criterios de ubicación de las estaciones fueron definidos considerando: el impacto de un efluente puntual; la influencia de la actividad antrópica sobre el recurso hídrico, el uso de suelo y la trama de caminos rurales que permitieran el acceso a los puntos de muestreo. El muestreo se realizó en abril del 2006, correspondiente al periodo de bajo caudal. Para ello, se seleccionaron cinco estaciones de muestreo en función del mejoramiento de la calidad de las aguas que debería reflejarse con el funcionamiento de una planta de tratamiento de aguas servidas municipal. La cobertura fue desde la parte alta de la cuenca, previo al efluente, en el sitio de descarga, un tributario y aguas abajo dentro de la zona urbana. Las estaciones son compatibles para los muestreos de agua, variables físico-químicas y de las comunidades de macroinvertebrados bentónicos. Todas estas estaciones fueron georeferenciadas con un posicionador satelital GPS (Fig. 5).



Código Estación	Nombre Estación	Longitud (W)	Latitud (S)	Altitud (m.s.n.m)	Observación
E1	Las Palmas	071°04'49"	33°01'33,5"	442	Cabecera
E2	Lo Gamboa	071°14'07"	33°00'01,3"	102	Curso principal
E3	PTAS	071°14'04,5"	32°59'57,2"	113	Curso principal
E4	Pte. Limache	071°15'57,7"	32°59'46,8"	80	Curso principal
T1	Lliu- Iliu	071°14'53,7"	33°00'23,5"	97	Tributario

**Figura 5** – Nombre y localización de las estaciones de muestreo en el área de estudio

### 5. 1. 2. Descripción de la vegetación y hábitat en las estaciones de muestreo

Para la caracterización del sustrato y vegetación ribereña, se realizaron observaciones empíricas complementadas con información bibliográfica.

Para el cálculo de caudal:

- Se estimó la profundidad media, utilizando 4 medidas para establecer el promedio, expresada en metros (m).
- Se midió la velocidad de la corriente (m/s), con cronómetro, el tiempo que se demora en recorrer un objeto flotante, la distancia de un metro. Obteniendo un valor medio realizando el ejercicio 3 veces como mínimo, expresado en (m/s).
- Se midió el ancho del cuerpo de agua, expresado en (m).

Caudal = Profundidad media x velocidad del agua x ancho

$$Q = \text{m}^3/\text{s} \quad \text{o} \quad Q = \text{l}/\text{s}$$

El caudal aproximado más certero se obtendrá multiplicando la sección media ( $\text{m}^2$ ) por la velocidad superficial ( $\text{m}/\text{s}$ ) y por un factor de 0,8 sugerido por Prat et al. (2001).

## 5.2. Parámetros fisicoquímicos

En cada estación se midieron “in situ” los siguientes parámetros: pH, conductividad, sólidos disueltos totales (SDT), con un equipo multiparámetro Hanna HI 9812, en tanto que el oxígeno disuelto (OD) y la temperatura ( $T^a$ ) con un oxígeno metro polarográfico Hanna HI 9143. Además se colectaron muestras de aguas de acuerdo a la norma NCh411/6.Of98, Calidad del agua – Muestreo (INN, 1998), Las muestras fueron transportadas refrigeradas ( $4^{\circ}\text{C}$ ) para los análisis de  $\text{DBO}_5$ , fósforo total y nitrógeno total de acuerdo a la norma NCh2313/15-16.Of97, Aguas residuales - Métodos de análisis (INN, 1997) y procedimientos de métodos estándar (APHA, 1989).

Los valores obtenidos de las variables físico químicas analizadas, se compararon con los rangos que establece la Norma Secundaria de Calidad Ambiental para la protección de las Aguas Continentales (actualmente en tramitación), y con la norma NCh 1333 (calidades de aguas para todos los usos)

### 5.3. Macroinvertebrados

La colecta de bioindicadores se realizó con un muestreador Surber (0,09 m<sup>2</sup>), en cada estación se consideraron cuatro réplicas (Fig. 6). Las muestras fueron fijadas en formalina al 4%. En el laboratorio se identificaron los individuos hasta el nivel taxonómico de familia, utilizando un estereomicroscopio (STEMI DV4) (Fig.7). Para la identificación de organismos se emplearon las claves de McCafferty (1981), Fernández & Domínguez (2001), Roldán (2003) y Figueroa (2004). Se determinó la riqueza de especies y se estimaron los índices de diversidad, abundancia, biomasa y equidad.



**Figura 6** - Captura de macroinvertebrados con red Surber



**Figura 7** – Identificación de macroinvertebrados en laboratorio

Para evaluar la calidad de las aguas, se utilizó el Índice Biótico de familias (IBF; Hilsenhoff, 1988) sugerido por Hauer & Lamberty (1996), modificado por Figueroa (2004): ChIBF. Además se complementó y comparó ésta metodología con los índices ChBMWP y SIGNAL 2

## 5. 4. Índices biológicos

Para la utilización de los índices IBF e IBMWP, se consideraron los índices modificados con las exclusiones de taxa que no se encuentran en ríos de Chile mediterráneo, así como con la inclusión de otros que sí están presentes, razón por la cual se antepone la “Ch”. Esto significó la asignación de puntajes de tolerancia para algunos grupos, para lo cual se siguieron los criterios de diversos autores en ríos chilenos de la zona centro sur de Chile. Esta metodología esta descrita en Figueroa (2004).

### 5.4.1. Índice Biótico de Familias (IBF; Hilsenhoff, 1988)

Se utiliza éste índice, ya que posee alta sensibilidad en la calidad de agua, considerando la abundancia y diversidad de las familias, para entregar resultados confiables para los objetivos propuestos; se sigue el método de acuerdo a los siguientes pasos:

- Básicamente se obtiene la taxonomía completa de los macroinvertebrados bentónicos a nivel de familia y el número de individuos de cada familia por estación de muestreo. Esta información se recopila en fichas de trabajo.
- Luego por cada familia se determina el puntaje de tolerancia, en donde 0 representa el menos tolerante y el 10 corresponde al más tolerante a la contaminación orgánica (Tabla 5).
- Después, se multiplica el puntaje de tolerancia por su correspondiente número de individuos. Los productos obtenidos para cada familia son sumados y divididos por el número total de individuos de todas las familias en cada estación lo que corresponde al IBF según la ecuación:  $IBF = \frac{1}{N} \sum n_i t_i$ . Donde: N = número total de individuos en la muestra (Estación),  $n_i$  = número de individuos en una familia y  $t_i$  = puntaje de tolerancia de cada familia.
- Posteriormente los valores del IBF se expresan en 5 clases de calidad ambiental, correspondiente a una escala de condición biológica que fue desarrollada para determinar el grado de contaminación orgánica (Tabla 9).

**Tabla 5** - Valores de tolerancia para macroinvertebrados bentónicos dulceacuícolas, para ríos de Chile mediterráneo *ChIBF* (Datos de Hilsenhoff, 1988 y Figueroa et al., 2003) (Tabla modificada de: Hauer & Lamberti, 1996).

Orden (o Clase)	Familia	Valor de tolerancia	Orden (o Clase)	Familia	Valor de tolerancia	
Plecoptera	Gripopterygiidae	1	Megaloptera	Corydalidae	0	
	Notonemouridae	0		Sialidae	4	
	Perlidae	1	Lepidoptera	Pyrilidae	5	
	Diamphipnoidae	0				
	Eustheniidae	0	Platyhelminthes	Turbellaria	4	
	Austroperlidae	1				
Ephemeroptera	Baetidae	4	Acari	4		
	Caenidae	7	Decapoda	6		
	Leptophlebiidae	2	Coleoptera	Elmidae	4	
	Siphonuridae	7				Psephenidae
	Oligoneuridae	2		Diptera	Athericidae	2
	Ameletopsidae	2			Blephariceridae	0
	Coloburiscidae	3	Ceratopogonidae		6	
	Oniscigastridae	3	Chironomidae		7	
Odonata	Aeshnidae	3	Empididae	6		
	Calopterygidae	5	Ephydriidae	6		
	Gomphidae	1	Psychodidae	10		
	Lestidae	9	Simuliidae	6		
	Libellulidae	9	Tipulidae	3		
	Coenagrionidae	9	Amphipoda	Gammaridae	4	
	Cordulidae	5				Hyaellidae
	Petaluridae	5	Mollusca	Amnicolidae	6	
Trichoptera	Calamoceratidae	3		Lymnaeidae	6	
	Glossosomatidae	0		Physidae	8	
	Helicopsychidae	3		Sphaeriidae	8	
	Hydropsychidae	4		Chiliniidae	6	
	Hydroptilidae	4		Oligochaeta	Hirudinea	8
	Leptoceridae	4				
	Limnephilidae	2				
	Ecnomidae	3		Hirudinea	Hirudinea	10
	Helicophidae	6				
	Polycentropodidae	3				
	Philopotamidae	2				
	Hydrobiosidae	0				
	Sericostomatidae	3				

#### 5. 4. 2. Índice Iberian Biological Monitoring Working Party (IBMWP; Alba-Tercedor, 1996)

Tras la identificación de los macroinvertebrados, se elabora una lista de inventario con las familias presentes con su respectiva puntuación (Tabla 6), y se realiza la sumatoria total de las puntuaciones correspondiente a cada una de ellas en cada punto de muestreo. La mayor o menor puntuación asignada a un taxón está en función de su mayor o menor sensibilidad a la contaminación orgánica. Con los valores obtenidos se lleva a una tabla de calidad de agua (Tabla 9).

**Tabla 6** - Puntuaciones asignadas a las diferentes familias de macroinvertebrados acuáticos para ríos de Chile mediterráneo *ChBMWP* (Datos de Hilsenhoff, 1988; y Figueroa et al., 2003 (Tabla modificada de Alba-Tercedor, 1996).

Familias Presentes	Puntuación	
P Austroperlidae, Diaphipnoidae, Eustheniidae, Gripopterygiidae, Notonemouridae,	10	
P Perlidae		
E Leptophlebiidae, Siphonuridae, Ameletopsidae, Oligoneuridae		
T Anomalopsychidae, Calamoceratidae, Helicophidae, Kokriidae, Leptoceridae		
T Phylorhynchidae, Sericostomatidae, Stenopsychidae, Tasiimidae		
Mg Corydalidae		
D Athericidae, Blephariceridae		
C Limnichidae, Psephenidae		
E Oniscigastridae		8
T Phylopotamidae, Glossosomatidae,		
O Lestidae, Calopterygidae, Gomphidae, Aeshnidae, Cordulidae, Libellulidae		
Cr Parastacidae		
T Ecnomidae, Hydrobiosidae, Polycentropodidae, Limnephilidae	7	
T Hydroptilidae,		
O Coenagrionidae, Petaluridae	6	
Cr Aegidae, Hyallellidae		
Ml Ancylidae, Chilinidae, Hyriidae		
T Hydropsychidae		
D Tipulidae, Simuliidae		
C Dryopidae, Elmidae		
Tc Tricladia *	5	
Ml Amnicolidae		
E Baetidae, Coenidae		
Mg Sialidae		
D Tabanidae, Stratiomyidae, Empididae, Dixidae, Ceratopogonidae, Limoniidae		
D Psychodidae		
C Haliplidae, Curculionidae, Psephenidae		
H Belostomatidae		
A Hydracarina		
C Hydrophilidae, Dytiscidae, Gyrinidae		3
H Gerridae, Notonectidae, Corixidae		
M Limnaeidae, Physidae, Planorbidae, Sphaeriidae		
Cr Janiiridae		
H Hirudinea*		
D Chironomidae, Culicidae, Ephydriidae	2	
D Syrphidae		
OI Oligochaeta	1	

Se han eliminado aquellas familias que no se encuentran en Chile

\* Todas las familias se consideran dentro del grupo

### 5. 4. 3. Índice Stream Invertebrate Grade Number-Average Level 2 (SIGNAL 2; Chessman, 2003)

En el caso particular de este índice, se utilizaron los valores de tolerancia sin modificaciones tal como se describe en Chessman (2003), y como lo utilizó Martínez (2005) como método evaluativo rápido de calidad de aguas para ríos de la quinta región.

- Al igual que los índices anteriores, el SIGNAL 2 utiliza la identificación de los macroinvertebrados hasta el nivel de familia. Cada familia tiene una puntuación entre 1 y 10 (Tabla 8). Una puntuación baja significa que las familias son tolerantes de un amplio rango de condiciones medioambientales, incluidas formas comunes de contaminación. Mientras que una alta puntuación denota que la familia es sensible a la mayoría de las formas de contaminación.
- Además, a cada taxón se le aplica un factor de peso que depende de la abundancia de este, el que es asignado como factor de peso (Tabla 7).
- Entonces el índice se calcula de la manera siguiente:

$SIGNAL\ 2 = \frac{\sum t_i W_i}{\sum W_i}$  Donde  $t_i$  es el valor de tolerancia del taxón y  $W_i$  corresponde al factor de peso número individuos en el taxón.

**Tabla 7** - Factor de peso asignado según número de individuos hallados en la muestra

Abundancia (Individuos)	Factor de peso ( $W_i$ )
de 1 a 2	1
de 3 a 5	2
de 6 a 10	3
de 11 a 20	4
sobre 20	5

- Con los valores obtenidos se lleva a una tabla de calidad de agua (Tabla 9).

**Tabla 8** - Valores de tolerancia de macroinvertebrados acuáticos utilizados en la determinación de SIGNAL 2 (Chessman, 2003)

Familia	Puntuación
Limnocharidae, Momoniidae, Torrenticolidae., Ptilodactylidae., Blephariceridae, Pelecorhynchidae., Siphonuridae., Austrocorduliidae., Austroperlidae, Eustheniidae., Helicophidae.	10
Teloganodidae., Nannochoristidae., Neurothidae., Hypolestidae, Telephlebiidae., Calocidae, Dipseudopsidae., Glossosomatidae	9
Arrenuridae, Aturidae, Hydrodromidae, Hydriphantidae, Hygrobatidae, Oxidae, Unionicolidae., Aphroteniinae (subfamilia), Athericidae., Coloburiscidae, Leptophlebiidae, Oniscigastridae, Macromiidae, Gripopterygidae, Antipodoeciidae, Helicopsychidae, Hydrobiosidae, Limnephilidae, Oeconesidae, Philopotamidae, Philorheithridae, Tasimiidae.	8
Hydrachnidae, Limnesiidae., Eusiridae, Melitidae., Elmidae, Microsporidae., Grapsidae., Dixidae, Thaumaleidae., Ameletopsidae, Corydalidae. Tetrastemmatidae, Osmylidae, Synlestidae, Atriplectididae, Calamoceratidae, Conoesucidae, Odontoceridae, Polycentropodidae	7
Psephenidae, Scirtidae., Siphonotidae., Diamesinae (subfamilia), Podonominae (subfamilia), Sciaridae, Tanyderidae. Diphlebiidae., Notonemouridae., Hydropsychidae, Leptoceridae	6
Eylaidae, Pionidae., Irídea, Sphaeriidae., Empididae, Simuliidae, Tipulidae., Baetidae., Glacidorbidae., Gelastocoridae., Sialidae., Gordiidae., Cordulephyidae, Corduliidae, Gomphidae, Hemicorduliidae, Megapodagrionidae., Naididae., Temnocephala.	5
Mideopsidae., Corophiidae, Neoniphargidae, Paramelitidae, Perthiidae., Corbiculidae., Gyrinidae, Hydrochidae, Limnichidae, Noteridae., Palaemonidae, Parastacidae., Ceratopogonidae, Orthoclaadiinae (subfamilia), Tanypodinae (subfamilia). Caenidae, Prosopistomatidae., Ancyliidae, Hydrobiidae, Thiaridae, Viviparidae., Gerridae, Richardsonianidae, Phreatoicidae, Aeshnidae, Libellulidae, Protoneuridae. Enchytraeidae, Phreodrilidae. Ecnomidae, Hydroptilidae.	4
Paracalliopidae, Talitridae. Brentidae, Carabidae, Hydraenidae, Ptiliidae, Staphylinidae. Atyidae, Hymenosomatidae., Sundatelpusidae .Chironominae (subfamilia), Dolichopodidae, Psychodidae, Tabanidae. Bithyniidae, Hebridae, Hydrometridae, Nepidae, Veliidae. Clavidae Janiridae, Mesamphisopidae. Pyralidae, Sisyridae, Isostictidae, Lindeniidae. Lumbriculidae, Tubificidae. Spongillidae. Kokiriidae.	3
Ceinae, Chrysomelidae, Curculionidae, Dytiscidae, Haliplidae, Hydrophilidae, Chaoboridae, Ephydriidae, Sciomyzidae, Stratiomyidae, Syrphidae. Planorbidae, Corixidae, Mesoveliidae, Naucoridae, Ochteridae, Pleidae. Hydridae, Cirolanidae, Oniscidae, Phreatoicopsidae, Coenagrionidae, Synthemistidae. Dugesidae	2
Notodromadidae, Koonungidae, Branchipodidae, Heteroceridae, Hygrobiidae., Cecidomyidae, Culicidae, Muscidae, Scatopsidae. Lymnaeidae, Physidae, Pomatiopsidae, Belostomatidae, Notonectidae, Saldidae, Erpobdellidae, Glossiphoniidae, Ornithobdellidae. Amphisopidae, Sphaeromatidae. Triopsidae, Lestidae, Urothemistidae.	1

**Tabla 9** - Clases de calidad ambiental para la aplicación de los índices y determinación del grado de contaminación orgánica.

Clase	Calidad	ChIBF (1)	ChBMWP (2)	SIGNAL 2 (3)	Significado
I	Muy Buena o Buena	0 – 3,75	101-150	= 6	Aguas muy limpias no contaminadas o poco alteradas
	Buena o Aceptable	3,76 - 4,63	61-100	= 5	Aguas ligeramente contaminadas
III	Regular o Dudosa	4,64 - 6,12	36-60	= 3,7	Aguas moderadamente contaminadas
	Malo o Crítica	6,13 - 7,25	16-35	> 3	Aguas muy contaminadas
V	Muy Malo o Muy crítica	7,26 - 10,0	= 15	= 3	Aguas fuertemente contaminadas

(1) Sistema de clasificación para IBF (adaptado por Hauer & Lamberti 1996).

(2) Sistema de clasificación para IBMWP' (Alba-Tercedor, 1996).

(3) Sistema de clasificación para SIGNAL 2 (Chessman, 2003).

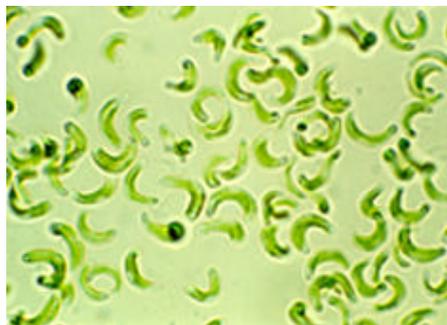
## 5.5. Bioensayos

En cada estación se tomaron muestras de agua para realizar los bioensayos con la microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Selenastrum capricornutum*). Estos se realizaron de acuerdo a la norma NCh2706 (INN, 2002). Para ello, previamente se prepararon las soluciones de nutrientes compuestas por Fe-EDTA, micronutrientes: B, Mn, Zn, Co, Mo, y macronutrientes: N, P, Mg, Ca, S, K, Na. Luego, en matraces Erlenmeyer, se inocularon las muestras de agua del estero Limache con un mismo volumen de *P. subcapitata* de un medio de cultivo que se encontraba en fase exponencial de crecimiento y fueron enriquecidas con una misma concentración de nutrientes para evitar falsos negativos debido a la deficiencia de nutrientes. Adicionalmente una solución control preparada con agua destilada, reemplazando el agua del estero, fue enriquecida con los mismos nutrientes. La concentración celular inicial fue de 100.000 céls/ml. Cada una de las muestras y control tuvieron cuatro réplicas. Los tratamientos resultantes con volumen de 50 ml se mantuvieron bajo luz blanca fría continua con una intensidad lumínica de  $90 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s} \pm 10 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  a una temperatura de  $23^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  y con agitación manual dos veces al día (Fig.8).

La densidad celular ( $N$ ) se determinó cada 24 horas por conteo directo en microscopio utilizando cámara de Neubauer de línea brillante durante 96 horas (Fig.9) y se determinó la tasa de crecimiento  $k$  en número de duplicaciones celulares por día (duplic/día) a partir de  $k = 3,322 (\log N_n - \log N_0) / t_n$ , donde  $N_n$  es la densidad celular al final del bioensayo;  $N_0$  es la densidad celular inicial nominal y  $t_n$  es el tiempo transcurrido entre el inicio y final del bioensayo (en días). También se determinó el porcentaje de inhibición de la tasa de crecimiento ( $I_k$ ) como  $I_k = (k_c - k_i) / k_c \times 100$ ; en donde  $k_c$  es la tasa de crecimiento para la concentración  $k$ ; y  $k_i$  corresponde a la tasa de crecimiento promedio para el control.



**Figura 8** – Matracas Erlenmeyer inoculados con la microalga



**Figura 9** – Vista en microscopio de *P. subcapitata*

## 5.6. Análisis de datos

Las estaciones fueron comparadas para definir sectores con similar composición taxonómica. Para ello se analizó una matriz de densidad correspondiente a la abundancia de cada taxa por estación de muestreo (datos con transformación  $\log_{10} x+1$ ). También se realizó el análisis inverso comparando agrupando los taxa con mayores afinidades, para esto, se redujo arbitrariamente la matriz original a una de familias dominantes considerando abundantes aquellas familias que tuvieron una abundancia mayor o igual a 1000 individuos. Para ambos análisis se utilizó como medida de similitud el índice de Bray & Curtis (1957) y el método de la media ponderada para construir el dendrograma (UPGMA). La correlación entre variables se determinó por análisis de Pearson y la significancia de la diferencia entre medias se realizó mediante la prueba T de Student. Para el análisis de la información se utilizaron los Software: Microsoft office Excel 2000, Biodiversity Pro y Systat 11.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Descripción de la vegetación y hábitat en las estaciones de muestreo

Según antecedentes recopilados, el área de estudio está situada en la región mediterránea semiárida (Di Castri, 1974). En esta región se presenta una vegetación que se caracteriza por matorrales bajos y estepas arbustivas, con una rica flora herbácea en los años lluviosos.

La zona correspondería a lo que Gajardo (1994) denomina la formación de “matorral espinoso del secano costero” que lo describe como un paisaje vegetal homogéneo, constituido por arbustos altos dispersos, en que el Espino (*Acacia caven*) es la especie dominante, acompañada en ciertos sectores por elementos esclerófilos. Esta es una formación de carácter secundario, como resultado del deterioro sufrido por el ambiente tras la intervención humana. En los pequeños valles y lugares menos alterados se encuentran asociaciones típicas de los bosques esclerófilos.

En los sitios de muestreo, la vegetación es alterada por cultivos y plantaciones de Eucalipto, por lo que actualmente se puede encontrar solamente algunas especies arbustivas como el espino (*Acacia caven*), Quilo (*Muelenbeckia hastulata*) y rebrotes de Eucalipto (*Eucalyptus globulus*) presentándose un aspecto de estepa arbustiva.

La asociación que crece en este lugar es la asociación descrita por Gajardo (1994) como “*Acacia caven* – *Maytenus boaria*” que es una comunidad muy variable en su composición florística, pero que a través de su amplia distribución geográfica conserva una fisionomía que le es característica. Está constituida por una estrata de plantas leñosas altas más o menos esparcidas y un densa estrata herbácea.

Especies representativas: *Acacia caven* “Espino”

Especies acompañantes: *Maytenus boaria* “Maitén”

*Proustia cuneifolia* “Guañil”

Especies comunes: *Baccharis linearis* "Romerillo"  
*Bromus berterianus* "Pasto largo"  
*Cestrum parqui* "Palqui"  
*Medicago polymorpha* "Hualputra"  
*Vulpia myorus* "Pasto fino"

Estación E1 (Las Palmas): Ecosistema lótico de cabecera (Fig.10)

El agua en este sector era clara, el fondo y las comunidades acuáticas se distinguen con facilidad. El cauce es angosto como "galería" perteneciente a una quebrada con cierta pendiente, con un ancho aproximado de 1 m y con una profundidad media de 8 cm, que no posee gran velocidad de corriente. El sector es rocoso y se caracteriza por el matorral arbustivo mayoritariamente introducido de ribera. Esta vegetación estaba representada principalmente por *Rubus ulmifolius* (zarzamora), *Baccharis marginalis* (chilca), *Peumus boldus* (boldo), *Acacia caven* (espino) y *Acacia melanoxylon* (acacia australiana). No se encontró vegetación acuática representativa.



**Figura 10** - Vista general de la estación E1, sector Las Palmas. Se aprecia el desarrollo de matorral introducido con escaso arbusto nativo en ambas riberas

Estación E2 (Lo Gamboa): Ecosistema lótico con remansos (Fig. 11)

El agua es ligeramente turbia, con cierta velocidad y con el fondo pedregoso. El estero presentó sectores donde se la corriente se arremanza, un cauce más ancho, con mayor penetración de luz y poca profundidad (18 cm), carente de vegetación ribereña lo que permite ampliamente el desarrollo de material autóctono (autotrofia). Se aprecia una gran cobertura de plantas acuáticas *Limnobium laevigatum* (Hierba guatona). Estas plantas están provistas de un tejido esponjoso que funciona como un flotador y prolifera en zonas de nutrientes. El sector corresponde a una zona rural y el uso de suelo es principalmente agrícola.



**Figura 11** - Vista general de la estación E2, sector Lo Gamboa. Se aprecia la gran cantidad de plantas acuáticas siendo dominante *Limnobium laevigatum* (Hierba guatona)

Estación E3 (Efluente PTAS): Ecosistema lótico con remansos (Fig.12)

Este sitio está muy intervenido por un camino que cruza transversalmente el estero y por el efluente directo de la planta de tratamiento. El agua es ligeramente turbia, con poca velocidad, con mayor profundidad debida al efluente y con el fondo pedregoso. El estero presentó sectores donde la corriente se arremanza, un cauce más ancho de riberas deterioradas, con gran penetración de luz y poca profundidad. Se aprecia una gran cobertura de plantas acuáticas *Limnobium laevigatum* (Hierba guatona). El sector corresponde a una zona rural y el uso de suelo es principalmente agrícola.



**Figura 12-** Vista general de la estación E3, sector efluente planta de tratamiento aguas servidas. Se aprecian algunas condiciones eutróficas.

Estación E4 (Puente Limache): Ecosistema lótico con remansos (Fig. 13)

Este sitio es una zona con protección de los cursos naturales de agua (ZR/ZE), según lo establecido en el plan regulador comunal. El agua es ligeramente turbia, con mayor velocidad de corriente y con el fondo pedregoso. El estero presentó un cauce ancho, con mayor penetración de luz, poca profundidad y con vegetación en sus riberas. Se aprecia otro tipo de plantas acuáticas, según bibliografía se reconocerían las especies *Zanichellia* sp, y *Potamogeton* sp en el sector (DGA, 2004).



**Figura 13** - Vista general de la estación E4, sector Puente Limache.

Estación T1 (Lliu-Iliu): Ecosistema lótico con remansos (Fig.14)

Este sitio corresponde a una zona con actividad agrícola y pequeños establos de animales en predios adyacentes. El agua es ligeramente limpia, con cierta velocidad de corriente y de fondo pedregoso. El estero presentó sectores de pocos remansos, un cauce ancho, penetración de luz, cierta profundidad y abundante vegetación ribereña.



**Figura 14** - Vista general de la estación T1, sector Puente Lo Chaparro (Lliu-Iliu).

## 6.2. Determinación de las variables físicas y químicas del agua

Los parámetros que más variaron entre las estaciones de muestreo fueron pH, DBO<sub>5</sub>, nitrógeno total y fósforo total (Tabla 10). El pH fluctuó entre 6,4 y 8,2; la DBO<sub>5</sub> entre 1,9 y 4,0 mg/l; nitrógeno total entre 0,09 y 0,6 mg/l; en tanto que el fósforo fluctuó de 0,03 a 2,35 mg/l. También se observó una importante variación en la conductividad.

Otros rangos mínimos y máximos se detallan a continuación:

**Temperatura (°C):** Los valores fluctuaron entre 13 en la estación E1 (Las Palmas) y 27, 5 en la estación E3 (efluente de la planta de tratamiento).

**Oxígeno Disuelto (mg/l):** El valor mínimo 8,2 se registró en la estación E1 (Las Palmas) y el valor máximo fue de 13 en la estación E4 (Puente Limache)

**Conductividad (µs/cm):** Los valores fluctuaron entre 240 en la estación E1 (Las Palmas) y 630 que se midió en la estación E3 (efluente PTAS).

**Sólidos disueltos totales (mg/l):** Registraron su valor mínimo 120 en la estación E1 (Las Palmas) y el máximo valor de 310 en la estación E3 (efluente PTAS).

**Caudal (m<sup>3</sup>/s):** Los valores fluctuaron entre 0,01 en la estación E1 (Las palmas) y 0,76 en la estación E4 (Puente Limache).

**Tabla 10** - Parámetros físico-químicos del agua en las cinco estaciones de muestreo

Parámetro	E1	E2	E3	E4	T1
Temperatura (°C)	13	20,6	27,5	23,7	17,7
pH	7,3	6,4	6,8	7,8	8,2
Conductividad (us/cm)	240	570	630	610	570
Oxígeno Disuelto (mg/l)	8,2	8,9	8,4	13	10,6
Sólidos Disueltos Totales (mg/l)	120	280	310	300	280
DBO <sub>5</sub> (mg/l)	1,9	4,0	2,0	1,9	1,9
Nitrógeno total (mg/l)	0,20	0,10	0,20	0,09	0,60
Fósforo total (mg/l)	0,18	2,35	1,72	0,54	0,03
Caudal (m <sup>3</sup> /s)	0,01	0,58	0,31	0,76	0,4

### 6.3. Comparación de los datos físico-químicos con la normativa vigente

Según la Norma Chilena de Protección de las Aguas Superficiales (DC87/01), las clases de calidad asociadas a la protección de las aguas continentales superficiales para la protección y conservación de las comunidades acuáticas, son de Clase de excepción y Clase 1, como se muestra en la tabla 8.

**Tabla 11** - Clasificación de clases de calidad para las estaciones de muestreo, de acuerdo a los niveles de parámetros físico químicos establecidos por la Norma Chilena de Protección de las Aguas Superficiales (DC87/01)

Parámetro	E1	E2	E3	E4	T1
Tª (°C)	s/i	s/i	s/i	s/i	s/i
pH	I [6,5-8,5]	I	I	I	I
Conductividad (us/cm)	I [< 600]	I	II [750]	II	I
O.D (mg/l)	I [> 7,5]	I	I	I	I
SDT (mg/l)	I [< 400]	I	I	I	I
DBO <sub>5</sub> (mg/l)	I [< 2]	II [5]	II	I	I
Nitrógeno total (mg/l)	sin valor de referencia				
Fósforo total (mg/l)	sin valor de referencia				

**s/i:** sin información

**I:** Clase de excepción

**II:** Clase 1

**III:** Clase 2

**IV:** Clase 3

**V:** Clase 4

Según la Norma chilena oficial NCh1333 (Requisitos de calidad del agua para diferentes usos), todas las estaciones de muestreo estarían cumpliendo los requisitos de riego según su conductividad para la clasificación de: agua con la cual generalmente no se observaran efectos perjudiciales con concentraciones de conductividad < 750 (us/cm) y de sólidos disueltos totales < 500 (mg/l). Con respecto a los requisitos generales de aguas destinadas a la vida acuática, en todos los sitios de muestreo, se cumple con los parámetros de oxígeno disuelto mayores al mínimo de 5 (mg/l) y pH en el rango 6 – 9.

## 6.4. Macroinvertebrados como bioindicadores de calidad del agua.

### 6.4.1. Análisis comunitario

#### a) Composición y riqueza taxonómica

En el área de estudio del estero Limache se registraron un total de 33 familias de macroinvertebrados de las cuales el 70 % corresponden a estados de insectos inmaduros (larvas y ninfas). Las familias se distribuyeron en 4 phylum, 7 clases y 15 órdenes, de éstos los más diversos fueron dípteros con 6 familias (18,2 %) y tricópteros con 4 familias (12,1 %) (Tabla 12).

**Tabla 12** - Familias de macroinvertebrados (> 250 µm) registrados en el área de estudio

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género o especie	% por Orden		
Arthropoda	Insecta	Tricoptera	Hydropsychidae	<i>Smicridea</i> sp.	12,1		
			Hydroptilidae	<i>Metrichia</i> sp.			
				<i>Oxyethira</i> sp.			
			Leptoceridae	Leptoceridae indet.			
				Glossosomatidae	<i>Mastigoptyla brevicornuta</i>	3,0	
		Plecoptera	Perlidae	Perlidae indet.			
		Megaloptera	Corydalidae	<i>Corydalis</i> sp.			
				Odonata	Gomphidae	Gomphidae indet.	6,1
					Coenagrionidae	Coenagrionidae indet.	
				Diptera	Chironomidae	Chironomidae indet.	18,2
					Ephydriidae	Ephydriidae indet.	
					Psychodidae	Psychodidae indet.	
					Athericidae	Athericidae indet.	
					Simuliidae	Simuliidae indet.	
					Ceratopogonidae	Ceratopogonidae indet.	
				Efemeroptera	Leptophlebiidae	Leptophlebiidae indet.	9,1
					Baetidae	<i>Andesiops</i> sp.	
					Caenidae	<i>Caenis</i> sp.	
				Coleóptera	Elmidae	Elmidae indet.	9,1
					Dytiscidae	Dytiscidae indet.	
					Hydraenidae	Hydraenidae indet.	9,1
				Hemiptera	Gerridae	<i>Aquarius</i>	
					Aphididae	Aphididae indet.	
		Vellidae	<i>Microvelia</i> sp.				
	Chelicerata	Acari	Familia indet	Hidracarina indet.	3,0		
	Crustacea	Decapoda	Aegliidae	<i>Aegla</i> sp.	6,1		

Mollusca	Gastropoda	Amphipoda	Hyalellidae	<i>Hyalella curvispina</i>	9,1
		Basommatophora	Ancylidae	<i>Gundlachia gayana</i>	
			Amnicolidae	<i>Littoridina cumingi</i>	
Platyhelminthes	Turbellaria	Tricladida	Physidae	<i>Physa chilensis</i>	3,0
			Dugessidae	Dugessidae indet.	
Annelida	Hirudinea	Glossiphoniiformes	Glossiphoniidae	Glossiphoniidae indet.	9,1
	Oligochaeta	Haplotaxida	Tubificidae	<i>Tubifex</i> sp.	
			Naididae	<i>Nais</i> sp.	

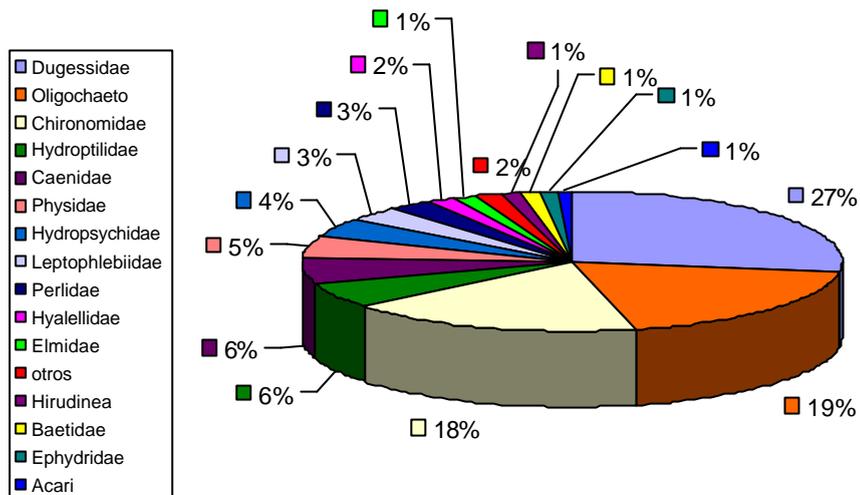
## b) Abundancia y biomasa

La abundancia total fue de 42511 individuos considerando el muestreo por metro cuadrado de todas las estaciones. La composición específica de familias, así como la distribución de biomasa en cada estación se puede observar en la tabla 13.

Los organismos más frecuentes y abundantes fueron los Dugessidae (27%), Oligochaetos (19%) y Chironomidae (18%); estos dos últimos presentes en todos los sitios de muestreo. Caenidae, Hydroptylidae, Physidae e Hydropsychidae también son importantes en el curso principal del estero, mientras que los únicos plecópteros Perlidae y efemerópteros Leptophlebiidae sólo se encontraron en la estación E1 (cabecera). En la estación E3 (efluente PTAS), destaca el desarrollo de hirudíneas que inciden fuertemente en el valor porcentual de la abundancia (Fig.15).

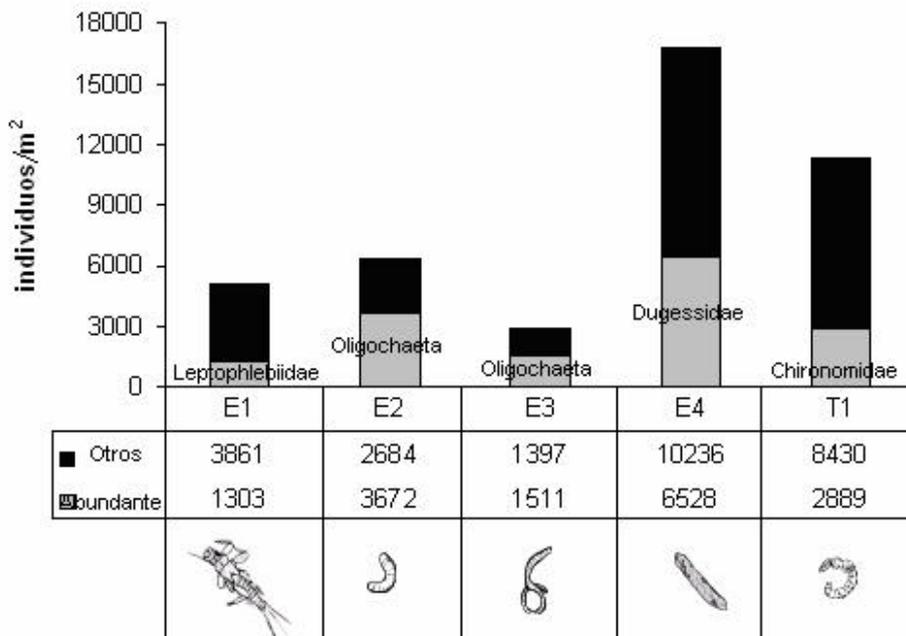
**Tabla 13** - Composición específica, abundancia y biomasa de los macroinvertebrados acuáticos recolectados en la campaña de muestreo abril 2006

Estaciones	Abundancia (individuos/m <sup>2</sup> )					Biomasa (g húmedo/m <sup>2</sup> )				
	E1	E2	E3	E4	T1	E1	E2	E3	E4	T1
Familias										
Perlidae	1214	0	0	0	0	0,2043	0	0	0	0
Hydropsychidae	97	0	3	836	867	0,3419	0	0,0136	4,6108	4,8855
Leptoceridae	33	0	0	0	0	0,2937	0	0	0	0
Glossosomatidae	3	0	0	14	53	0,0207	0	0	0,105	0,3975
Hydroptilidae	0	450	64	681	1361	0	0,435	0,0298	0,6583	2,6566
Corydalidae	36	0	0	0	0	3,5424	0	0	0	0
Coenagrionidae	0	0	6	0	3	0	0	0,0199	0	0,0102
Gomphidae	6	0	0	0	0	0,3846	0	0	0	0
Chironomidae	1081	67	206	3272	2889	0,0101	0,0008	0,0119	0,4841	0,4275
Simuliidae	36	0	0	0	0	0,0024	0	0	0	0
Ephydriidae	161	42	125	53	31	0,2906	0,0126	0,1578	0,0159	0,0248
Psychodidae	0	0	19	0	0	0	0	0,0085	0	0
Athericidae	31	0	0	0	0	0,3844	0	0	0	0
Ceratopogonidae	31	0	3	0	0	0,0077	0	0,0006	0	0
Leptophlebiidae	1303	0	0	0	0	0,7035	0	0	0	0
Baetidae	0	31	58	83	278	0	0,0069	0,0584	0,0296	0,0988
Caenidae	0	33	33	2308	164	0	0,0528	0,0473	3,6997	0,0149
Dytiscidae	6	0	0	0	0	0,315	0	0	0	0
Hydraenidae	0	44	0	94	61	0	0,0057	0	0,0119	0,0081
Elmidae	539	0	0	0	3	3,4084	0	0	0	0,0072
Gerridae	14	0	0	0	0	0,1727	0	0	0	0
Aphididae	6	36	47	22	11	0,0005	0,006	0,0141	0,0036	0,0011
Vellidae	0	0	3	0	0	0	0	0,0003	0	0
Ancylidae	58	0	0	0	0	0,2104	0	0	0	0
Amnicolidae	67	0	0	0	0	0,0220	0	0	0	0
Physidae	0	8	8	483	1644	0	0,1596	0,0798	10,242	16,484
Aegidae	33	0	0	0	0	13,0163	0	0	0	0
Hyaellidae	6	89	153	450	3	0,01	0,0465	0,2785	0,2351	0,0054
Dugessidae	0	1719	553	6528	2817	0	2,7675	0,6293	12,103	5,2227
Hirudinea	0	97	100	186	83	0	0,1127	0,62	0,4217	0,1882
Oligochaeta	367	3672	1511	1575	889	0,06815	0,1615	0,9776	0,7315	0,7885
Familia indeterminada	25	0	0	0	0	0,00083	0	0	0	0
Acari	36	22	14	178	153	0,0024	0,0022	0,0008	0,0088	0,0076



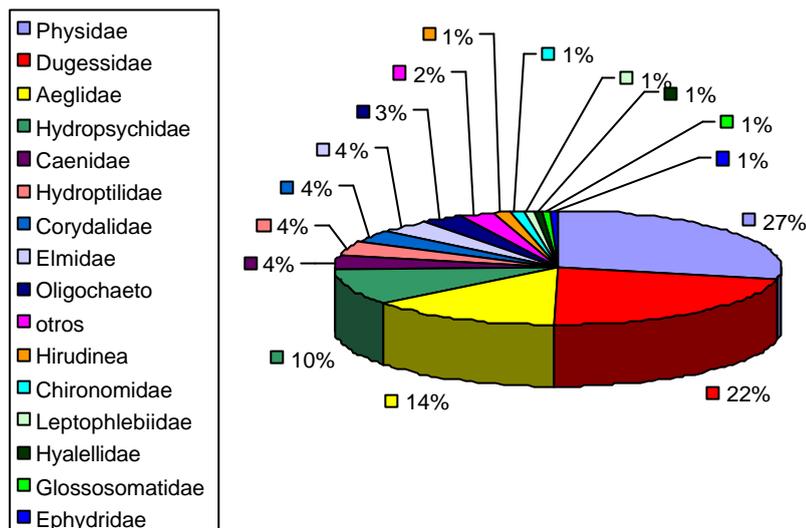
**Figura 15** - Abundancia porcentual de familias de macroinvertebrados en el estero Limache

En la figura 16 se compara la abundancia de individuos por estaciones, y el orden-familia más dominante en cada sitio de muestreo, destacando el dominio de oligoquetos en las estaciones E2 y E3.



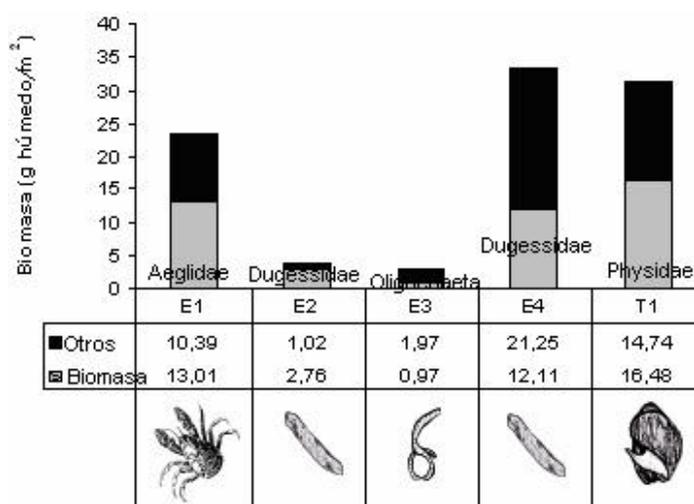
**Figura 16** - Abundancias y orden-familia más representativo por estaciones

La biomasa total considerando todas las estaciones fue de 94,72 g (Fig.17). De acuerdo a su contribución los principales grupos fueron Physidae (27 %), Dugessidae (22%), Aeglidae (14 %) e Hydropsychidae (10 %). La comparación de biomasa por organismo en las estaciones se muestra en la figura 18, destacándose la familia Aeglidae en la estación E1 y Dugessidae en las estaciones E2 y E4.



**Figura 17** - Biomasa porcentual de familias de macroinvertebrados en el estero Limache

Las mayores biomásas se corresponden con las estaciones que presentan las mayores abundancias E4 [33,36; 16764] y T1 [31,22; 11319] (Fig. 16 y 18).



**Figura 18** - Biomasa y orden-familia más representativo en peso por estaciones

### c) Índices de diversidad

En general, los parámetros comunitarios de las familias siguieron un comportamiento heterogéneo en todas las estaciones. Los intervalos fueron: [13-23] Riqueza específica; [0,53-0,88] Diversidad general de Shannon & Wiener (H'); [1,11-1,36] Diversidad de Shannon bajo condiciones de igualdad máxima (Hmáx); [0,47-0,69] Equidad de Pielou (J) y [0,18-0,42] Diversidad de Simpsons (D). En la tabla 14 se muestran las variables comunitarias obtenidas en el muestreo de macroinvertebrados, en ella aparecen los valores máximos y mínimos de acuerdo a su distribución espacial; se incluyen datos de riqueza específica, abundancia y biomasa.

En la estación E1 (Las Palmas) se encontró la mayor riqueza faunística y diversidad (H'). La estación E2 (Lo Gamboa), presenta la menor diversidad, equidad y riqueza específica. La estación E3 (efluente PTAS) presentó la menor abundancia y biomasa, sin embargo, la riqueza específica incrementa el valor de su índice de diversidad. En contraste, en las estaciones E4 (Puente Limache) y T1 (Lliu-lliu) se observó una tendencia inversa, con similares valores de diversidad entre ellas, sin embargo, el tributario presenta superiores condiciones en términos de diversidad, riqueza específica y equidad.

**Tabla 14** – Índices comunitarios y de diversidad

Índice	E1	E2	E3	E4	T1
Shannon H' Log Base 10	0,88	0,53	0,71	0,80	0,85
Shannon Hmax Log Base 10	1,36	1,11	1,23	1,18	1,23
Pielou Equidad J	0,64	0,47	0,57	0,67	0,69
Simpsons Diversity (D)	0,18	0,42	0,32	0,22	0,18
Riqueza específica	23	13	17	15	17
Abundancia (N 10 <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> )	5,08	6,23	2,86	16,65	11,24
Biomasa (g húmedo/m <sup>2</sup> )	23,41	3,76	2,94	33,36	31,22

#### d) Análisis de agrupación (con transformación de datos)

Los resultados de la similitud biocenótica entre las distintas estaciones, muestran que la mayor similitud se presenta entre las estaciones E4 y T1 con 89% (Tabla 15).

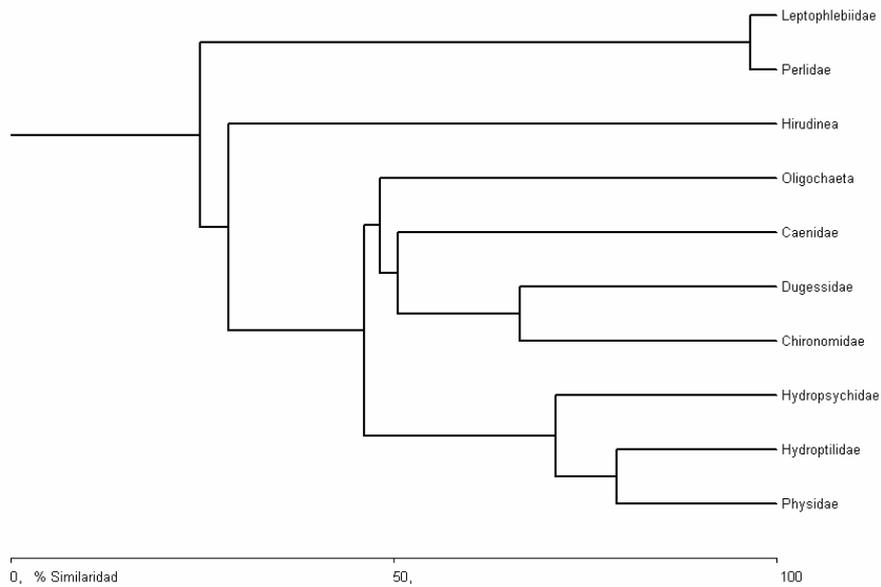
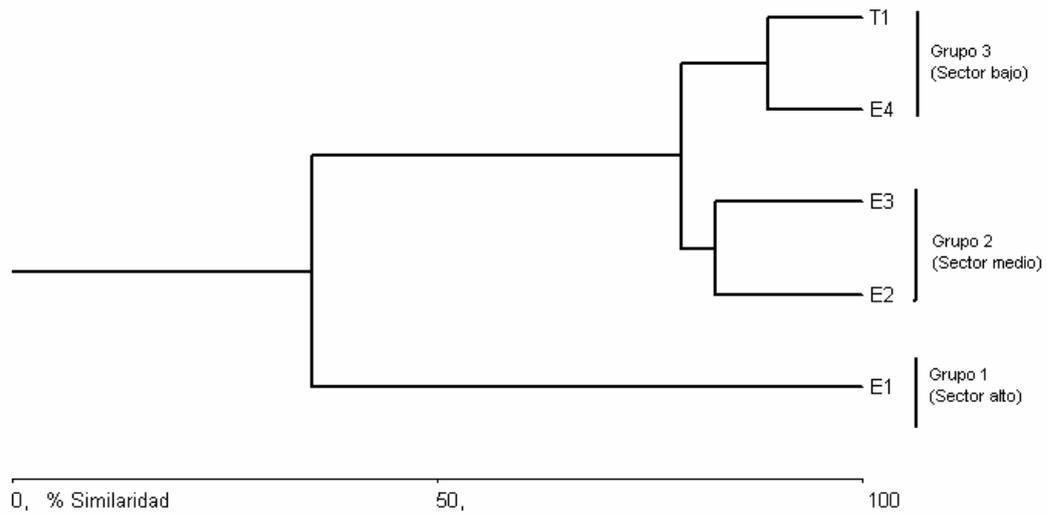
**Tabla 15** - Matriz de similitud para macroinvertebrados acuáticos

	E1	E2	E3	E4	T1
E1	-	27,8	32,9	34,0	35,2
E2	-	-	82,8	78,7	74,3
E3	-	-	-	71,8	68,2
E4	-	-	-	-	88,9

La clasificación de las estaciones de muestreo mediante el análisis de conglomerado UPGMA (Fig.19) permitió reconocer tres grupos de estaciones (a una línea arbitraria de corte de un 80 % de similitud), los cuales se ajustan a su ubicación espacial dentro del área de estudio. Estos grupos están ordenados en similitud ascendente: Grupo1; Grupo 2; Grupo3. Además muestra como la estación 1 es la más disímil con respecto a las demás.

El grupo 1, lo constituye la estación E1 (sector alto), asociada a los otros grupos a una similitud del 35 %. El grupo 2, formado por las estaciones E2 – E3 (sector medio), presentó una similitud de 82 %. El grupo 3, formado por las estaciones E4 – T1 (sector bajo) presentó la mayor similitud de 89 %.

En relación a las familias que explican esta distribución (Fig. 19), se observa que las estaciones son definidas primero por aquellas de ambientes de calidad buena, Leptophlebiidae y Perlidae organismos relacionados con la vegetación de ribera. Organismos más tolerantes como Oligochaeta y Chironomidae siempre se separan al aumentar su abundancia en ambientes perturbados, especialmente donde existe alta deposición de materia orgánica. Hydropsychidae, Hydroptylidae y Physidae son muy comunes en ambientes de calidades buenas a regulares, pero también deben considerarse que son muy abundantes en los sistemas lóticos chilenos y se les puede encontrar en ambientes con un grado de perturbación.



**Figura 19** – Dendrograma UPGMA del índice de similitud Bray & Curtis entre estaciones de muestreo y familias dominantes.

Los factores que pueden influir en la forma en que se asocian los macroinvertebrados según el índice Bray-Curtis son: la disponibilidad de alimento riberas o plantas acuáticas que dan sustento y refugio para el desarrollo de las comunidades, el tipo de sedimento que forma el sustrato del cuerpo de agua, incremento en la abundancia de peces, la antropización de los sitios. Además puede estar afectada por la pendiente, la velocidad de la corriente, el caudal (deriva de macroinvertebrados) y variaciones estacionales que pueden estar influyendo en la abundancia y distribución de los organismos.

## e) Aplicación de Índices Bióticos

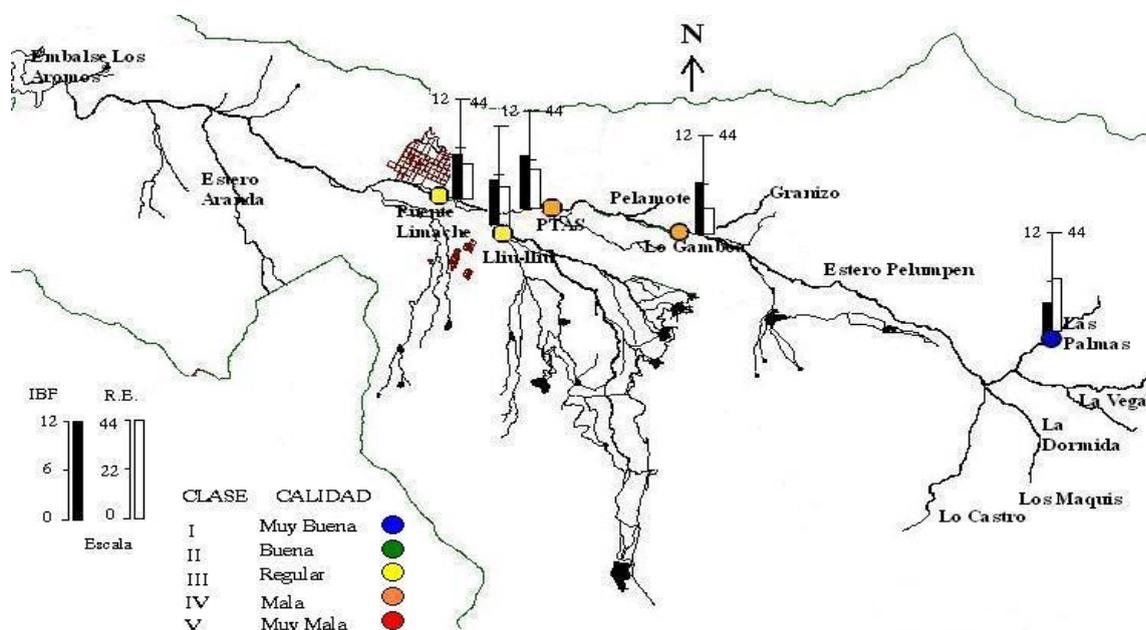
El cálculo para la aplicación de los índices se encuentra detallado en los anexos I – V.

### - Índice Biótico de Familias (modificado de Hinselhoff 1988; *ChIBF*):

Los resultados de este índice muestran que las aguas de las estaciones de muestreo en el presente estudio tuvieron una calidad de “Mala” a “Regular” excepto la estación E1, que estuvo en una condición de “Muy Buena”; el resto de las estaciones siempre fueron de clases III-IV (Tabla 16 y Fig. 20)

**Tabla 16** – Clasificación de calidad de agua según el índice *ChIBF*

Estación	Valor del Índice <i>ChIBF</i>	Clase de Calidad		Color
E1	3,55	I	Muy Buena	Azul
E2	6,57	IV	Malo	Naranja
E3	6,94	IV	Malo	Naranja
E4	5,68	III	Regular	Amarillo
T1	5,75	III	Regular	Amarillo



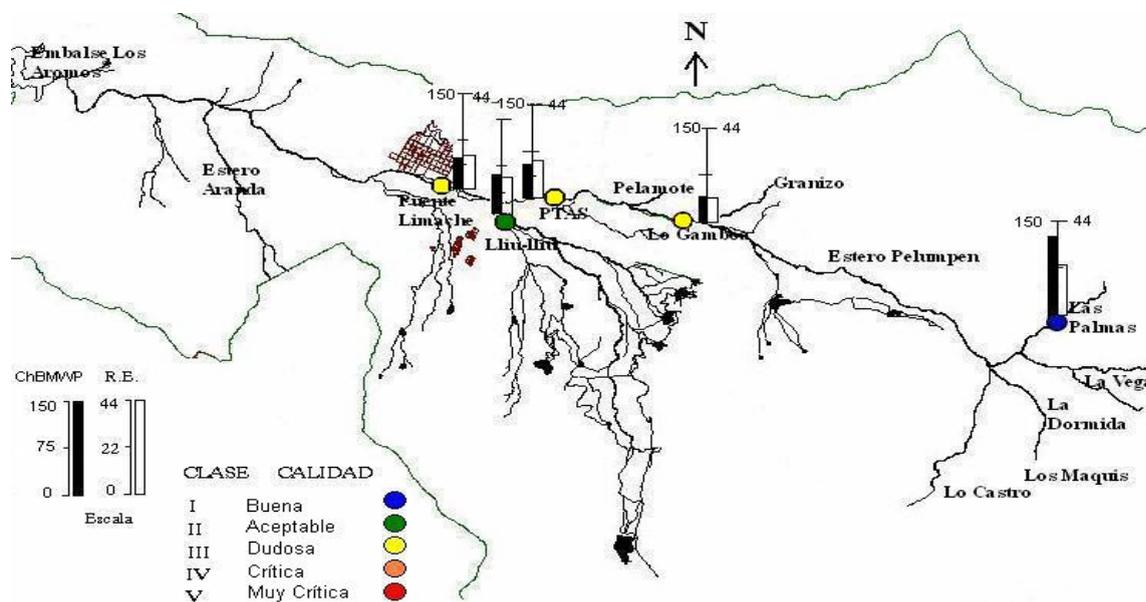
**Figura 20** - Mapa de calidad de aguas en los sitios de muestreo. Representación del *ChIBF* y la variabilidad espacial de la riqueza específica (R.E.).

- **Biological Monitoring Working Party (modificado de Alba-Tercedor, 1996; IBMWP):**

Los resultados de este índice muestran que las aguas de las estaciones de muestreo tuvieron una calidad entre “Dudosa” y “Aceptable” excepto la estación E1, que estuvo en una condición de “Buena”, el resto de las estaciones siempre fueron de clases II-III (Tabla 17 y Fig. 21)

**Tabla 17 - Clasificación de calidad de agua según el índice *ChBMWP***

Estación	Valor del Índice <i>ChBMWP</i>	Clase de Calidad	Color
E1	122	I	Buena
E2	40	III	Dudosa
E3	58	III	Dudosa
E4	53	III	Dudosa
T1	63	II	Aceptable



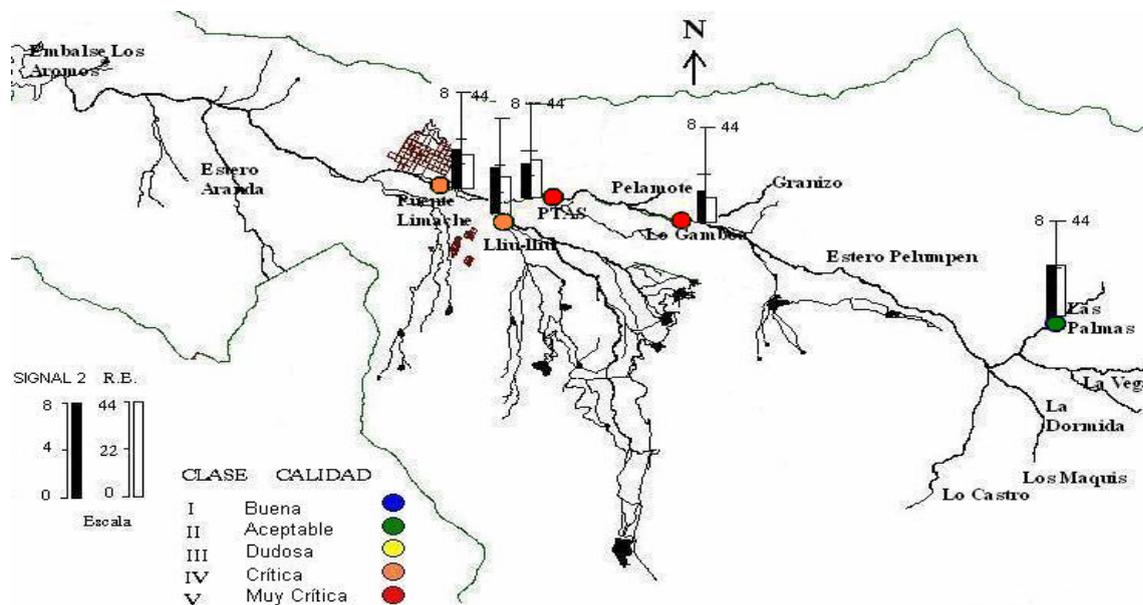
**Figura 21 - Mapa de calidad de aguas en los sitios de muestreo. Representación del Índice *ChBMWP* y la variabilidad espacial de la riqueza específica (R.E.).**

- Índice Stream Invertebrate Grade Number-Average Level 2 (SIGNAL 2; Chessman, 2003)

Los resultados de este índice muestran que las aguas de las estaciones de muestreo tuvieron una calidad de “Muy Crítica” a “Crítica” excepto la estación E1, que estuvo en una condición de “Aceptable”, el resto de las estaciones siempre fueron de clases IV-V (Tabla 18 y Fig.22).

**Tabla 18** - Clasificación de calidad de agua según el índice SIGNAL 2

Estación	Valor del Índice SIGNAL 2	Clase de Calidad		Color
E1	5,31	II	Aceptable	Verde
E2	2,77	V	Muy Crítica	Rojo
E3	3,00	V	Muy Crítica	Rojo
E4	3,40	IV	Crítica	Naranja
T1	3,54	IV	Crítica	Naranja



**Figura 22** - Mapa de calidad de aguas en los sitios de muestreo. Representación del Índice SIGNAL 2 y la variabilidad espacial de la riqueza específica (R.E.).

## f) Análisis comparativo

Una visión comparativa de los resultados obtenidos mediante los tres índices bióticos estudiados (*ChIBF*, *ChBMWP*, SIGNAL 2) es presentado en la tabla 19. En ella se observa que los índices muestran prácticamente las mismas clases de calidad para la estación E1, potenciando el establecimiento de un sitio de referencia de buena calidad para la cabecera de la cuenca. Sin embargo, estos índices clasifican de distinta manera los tramos de la parte media y baja del área de estudio. El SIGNAL 2 es el que más se aleja, mostrándose con peores clases de calidad que los índices anteriores, incluso en la estación E1, donde no reconoce aguas de buena calidad biológica, clasificándolas como aceptable. Por otra parte, en la aplicación de los tres índices, se reconoce un empeoramiento abrupto en la calidad de las aguas en el sector medio, y una leve recuperación de la calidad de agua a medida que descendemos y se llega a la zona urbana de la ciudad de Limache.

**Tabla 19** – Comparación del resultado de los índices para cada estación.

Estaciones	ChIBF		ChBMWP		SIGNAL 2	
E1	I Muy Buena	3,55	I Buena	122	II Aceptable	5,31
E2	IV Malo	6,57	III Dudosa	40	V Muy Crítica	2,77
E3	IV Malo	6,94	III Dudosa	58	V Muy Crítica	3,00
E4	III Regular	5,68	III Dudosa	53	IV Crítica	3,40
T1	III Regular	5,75	II Aceptable	63	IV Crítica	3,54

En los análisis de correlación realizados entre los índices bióticos y las variables de diversidad ( $H'$ ), riqueza faunística ( $s$ ) y equidad ( $J$ ) (Tabla 20), es posible observar que existe una correlación positiva significativa entre el *ChBMWP* y el SIGNAL 2 ( $r=0,98$ ). A su vez, éstos, se correlacionan bastante bien con la riqueza específica ( $s$ ). También el *ChIBF* tiene correlaciones negativas significativas con los otros índices principalmente con el SIGNAL 2 ( $r=-0,97$ ). Sin embargo, ninguno de estos índices muestra una correlación significativa con el índice de Shannon ( $H'$ ) y la Equidad ( $J$ ).

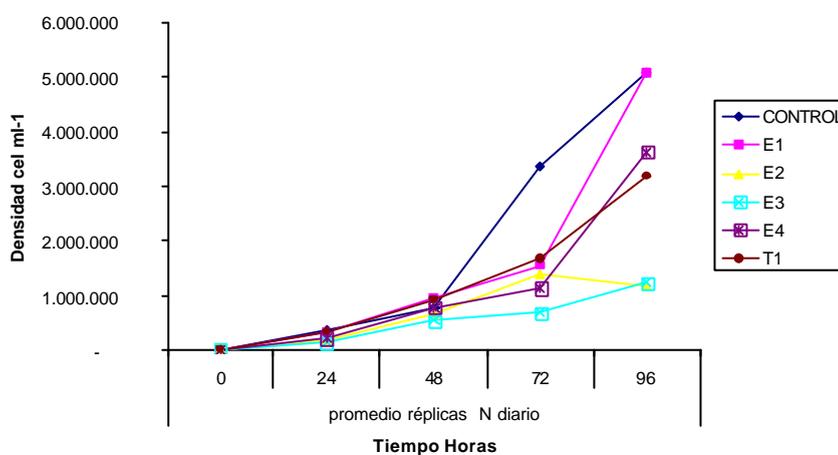
**Tabla 20** - Matriz de correlación Pearson

	CHIBF	CHBWMP	SIGNAL 2	s	H'
CHBWMP	<b>-0,91*</b>				
SIGNAL 2	<b>-0,97*</b>	<b>0,98*</b>			
s	-0,83	<b>0,98*</b>	<b>0,93*</b>		
H'	-0,70	0,70	0,75	0,76	
J	-0,49	0,40	0,50	0,63	<b>0,93*</b>

\* Correlación significativa  $p < 0,05$

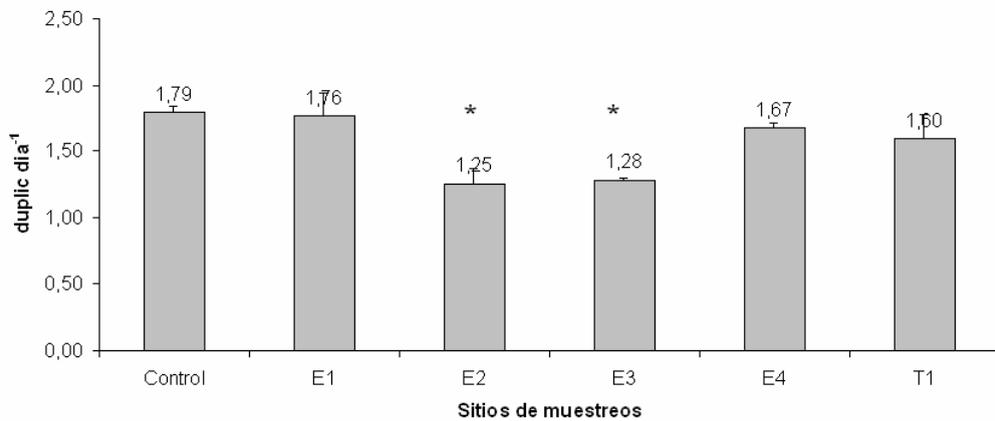
### 6.5. Determinación de la toxicidad de las aguas a través del bioensayo

Para este estudio se observan efectos tanto inhibitorios como estimuladores de las muestras sobre el crecimiento de la microalga con respecto al control de laboratorio. Al comparar las curvas de crecimiento de la microalga se observa que éste fue mayor en la estación E1, equiparándose a las 96 horas con la curva del control. Se observó también un bajo crecimiento celular en las estaciones E2 y E3 (Fig. 23).



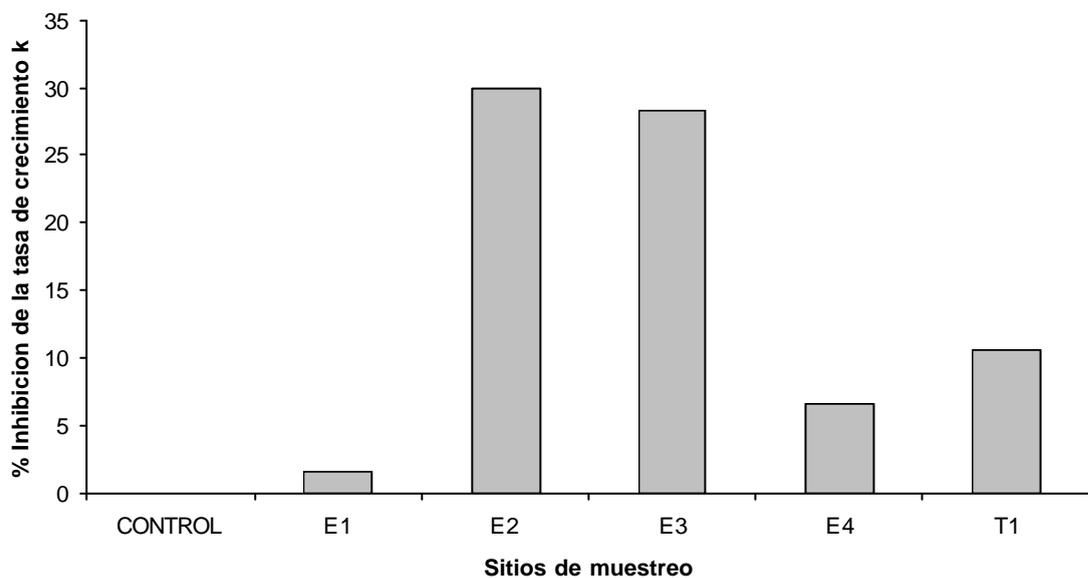
**Figura 23** - Curva de crecimiento para *P. subcapitata* durante el bioensayo

Las estaciones E1 y E4 presentaron una estimulación del crecimiento similar al comportamiento del control (Fig. 24).



**Figura 24** - Tasa de crecimiento k de la microalga *P. subcapitata* a las 96 horas en el grupo control y experimental. \* Diferencia significativa ( $p < 0,05$ ).

En las estaciones E2 y E3 hubo un claro efecto inhibitorio en el crecimiento de las microalgas, siendo el porcentaje más crítico de inhibición cercano al 30% en la estación E2 (Fig. 25).



**Figura 25** – Porcentaje de inhibición de la tasa de crecimiento k a las 96 horas

## 6.6. Relación entre los índices biológicos y los parámetros físico-químicos

Según la interpretación de Colton en Rodríguez (2000), un coeficiente de correlación ( $r$ ) entre 0,50 y 0,75 implica una correlación moderada a buena entre las variables, y mayor de 0,75 implica una muy buena a excelente correlación. El ChIBF se correlacionó positivamente con las variables: conductividad ( $r = 0,92$ ), sólidos disueltos totales ( $r = 0,92$ ), temperatura ( $r = 0,84$ ) y fósforo total ( $r = 0,71$ ). Los otros índices tienen una tendencia similar pero inversa al correlacionarse negativamente con las mismas variables. Además se distingue una correlación moderada entre los índices bióticos y el caudal, así como también, una correlación buena con la altitud (Tabla 21).

**Tabla 21** – Correlación de Pearson entre los índices bióticos y las variables físicoquímicas

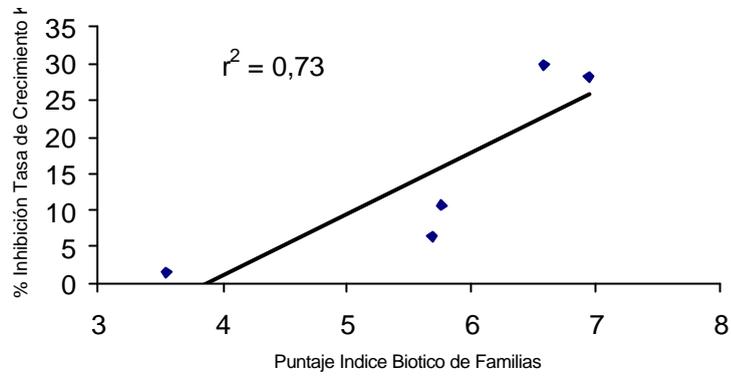
Variable	ChIBF	ChBWMP	SIGNAL 2
Altitud (msnm)	-0,88*	0,96**	0,93**
Velocidad de corriente (m/s)	0,17	-0,42	-0,27
Caudal (m <sup>3</sup> /s)	0,59	-0,85*	-0,74*
Temperatura (°C)	0,84*	-0,72*	-0,79*
pH	-0,36	0,20	0,32
Conductividad (us/cm)	0,92**	-0,94**	-0,94**
Oxígeno disuelto (mg/l)	0,07	-0,38	-0,21
Sólidos Disueltos Totales (mg/l)	0,92**	-0,94**	-0,94**
DBO <sub>5</sub> (mg/l)	0,37	-0,48	-0,48
Nitrógeno total (mg/l)	-0,06	0,09	0,11
Fósforo total (mg/l)	0,71*	-0,60	-0,70*

\* Correlaciones que siguen la interpretación de Colton.

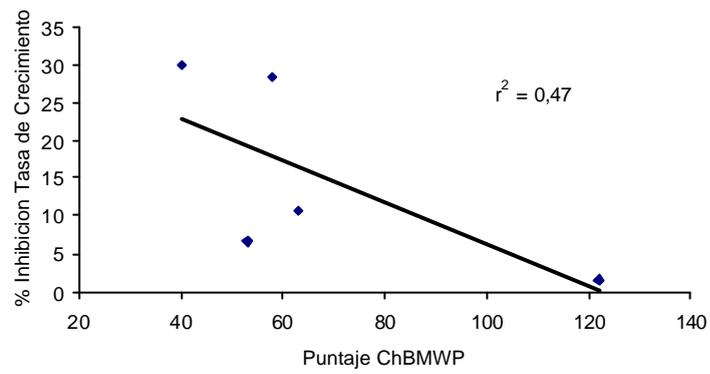
\*\* Correlaciones significativas ( $p < 0,05$ )

## 6.7. Relación entre el bioensayo y los índices bióticos

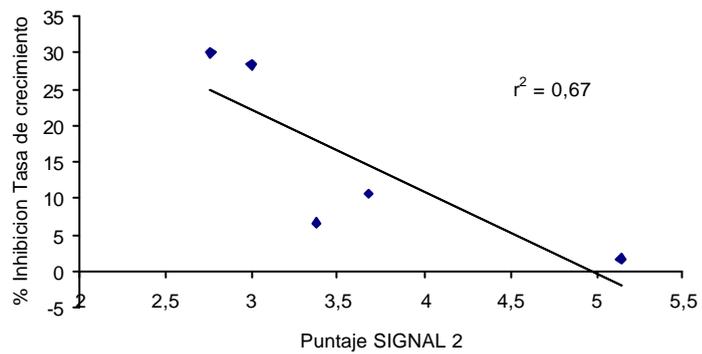
La figura 26 muestra el comportamiento del porcentaje de inhibición del crecimiento de la microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*, en función de los puntajes de calidad de las aguas asignados por cada índice en su aplicación para este estudio. La mayor correspondencia se observa en la letra a) entre el % inhibición K y el ChIBF ( $r^2 = 0,73$ ); con una  $p = 0,06$  (el valor de  $p$  más bajo de las 3 correlaciones). Por estos resultados, se tomara en cuenta el índice biótico de familias para la evaluación integral de calidad de agua, considerando las variables más significativas.



a)



b)



c)

**Figura 26** - Correlación entre el % Inhibición de la tasa de crecimiento (k) de *P. subcapitata* con los índices: a) *ChIBF* ( $p=0,06$ ), b) *ChBMWP* y c) *SIGNAL 2* ( $p>0,05$ )

## 6.8. Evaluación integral de la calidad del agua del estero Limache

La evaluación de la calidad de aguas para el estero Limache, en respuesta al efluente de la planta de tratamiento, según la aplicación del *ChIBF*, varía de “Mala” a “Regular”; a excepción de lo que ocurre en la estación E1. Se integraron las variables en una matriz de Pearson (Tabla 22), correlacionándose positivamente y significativamente ( $p < 0,05$ ) el *ChIBF* con: la conductividad eléctrica ( $r = 0,92$ ) y los sólidos disueltos totales ( $r = 0,92$ ). Además la correlación con la tasa de crecimiento  $k$  de *P. subcapitata* tiene una  $p = 0,06$ , con valores de  $r$  negativos puesto que mayores valores del *ChIBF* indican una peor condición biológica (Fig. 27). Similar tendencia se observa con el índice de diversidad. La tasa de crecimiento  $K$  de la microalga se correlaciona positiva y significativamente con la diversidad de familias de macroinvertebrados, e inversamente con el fósforo total. Así como también, se observó una correlación significativa e inversa entre la diversidad  $H'$  y la materia orgánica (fósforo total y  $DBO_5$ ). Para el caudal no se observaron correspondencias significativas.

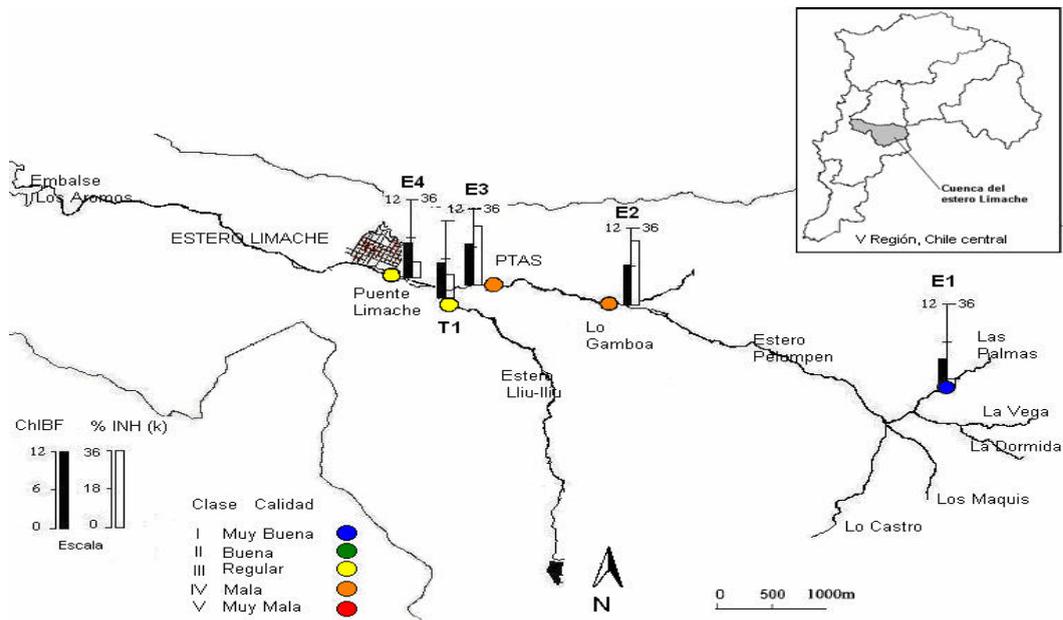


Figura 27 - Mapa de calidad de aguas, variabilidad espacial en el % INH. (K) y del ChIBF

**Tabla 22 – Correlación de Pearson entre las principales variables**

PEARSON (r)	H'	k 96 horas	Nitrógeno total (mg/l)	Fósforo total (mg/l)	T <sup>a</sup> (°C)	SDT (mg/l)	Conductividad (us/cm)	DBO <sub>5</sub> (mg/l)	Caudal (m <sup>3</sup> /s)
ChIBF	-0,71	-0,86	-0,06	0,71	0,84	0,92*	0,92*	0,37	0,59
H' Log base 10		0,88*	0,46	-0,95*	-0,44	-0,48	-0,48	-0,89*	-0,45
k 96 horas			0,23	-0,93*	-0,63	-0,60	-0,60	-0,63	-0,25
Nitrógeno total (mg/l)				-0,56	-0,31	0,44	0,04	-0,38	-0,24
Fósforo total (mg/l)					0,55	0,44	0,44	0,76	0,29
T <sup>a</sup> (°C)						0,85	0,85	0,01	0,55
SDT (mg/l)							1,00*	0,16	0,77
Conductividad (us/cm)								0,16	0,77
DBO <sub>5</sub> (mg/l)									0,33

\* Correlación significativa  $p < 0,05$

## 7. DISCUSION

Desde los años 50, las evaluaciones biológicas de la calidad de aguas de arroyos están reemplazando o complementando progresivamente a la medición de parámetros químicos que por sí solos no proveen adecuada información de los efectos de perturbación sobre los organismos vivientes (Metcalf, 1994; Moya et al., 2006). Es así como en la norma secundaria de calidad de aguas se han considerado los bioindicadores y bioensayos de toxicidad para determinar los impactos producidos sobre las comunidades acuáticas (CONAMA, 2001).

Los resultados muestran un importante incremento de concentraciones en algunos parámetros fisicoquímicos para las estaciones E2 y E3. Esto podría estar relacionado con la actividad agrícola y los aportes de la planta de tratamiento, especialmente la conductividad y el fósforo. Martínez-Bastida et al. (2006) en el río Oja (España), observaron resultados similares relacionados con la aplicación de fertilizantes nitrogenados y una mayor presencia de ortofosfatos procedentes de una depuradora. Con respecto al aumento de nitrógeno en el tributario T1, éste podría ser aportado por desechos líquidos provenientes de un pequeño establo con animales adyacente al estero. No obstante lo anterior, en general los parámetros estuvieron en los rangos característicos para aguas de la región, como son el estero Catemu, el río Putaendo y segmentos del río Aconcagua, los que han sido caracterizados por la Dirección General de Aguas, y que presentan un uso del suelo similar (DGA, 2004).

La comparación con la normativa chilena, muestra que para las cinco estaciones las variables pH, oxígeno disuelto y sólidos disueltos totales se encuentran dentro de la clase excepcional de la norma secundaria de calidad ambiental para la protección de las aguas continentales (CONAMA, 2001). En cuanto a la conductividad, en las estaciones E3 y E4; la DBO<sub>5</sub> en las estaciones E2 y E3, se encuentran en los rangos que establece la clase 1, la cual corresponde a muy buena calidad e indica un agua apta para la protección y conservación de las comunidades acuáticas. Los valores de los parámetros oxígeno disuelto, pH, conductividad, sólidos disueltos totales y temperatura estuvieron dentro de los rangos establecidos para cumplir la norma chilena Nch 1333 (requisitos de calidad del agua para diferentes usos). Cabe destacar que la estación E1 presenta los valores más bajos de temperatura, conductividad y sólidos disueltos totales, casi la mitad

de lo que se mide en las otras estaciones, por lo que se considera un adecuado lugar de control. Los valores de fósforo total y nitrógeno total no se pudieron contrastar con la normativa chilena, ya que no están considerados. Con respecto a estos nutrientes, las concentraciones registradas en las estaciones E2 y E3 de fósforo total son notablemente elevadas en comparación a los valores observados en la cuenca del río Damas (Figueroa et al., 2003), en cambio el nitrógeno total presento valores similares o inferiores a dicho estudio. Contrastando con la normativa de calidad de aguas de República Dominicana todas las estaciones excederían los valores naturales establecidos para fósforo total 0,025 mg/l, presentes en aguas superficiales (Secretaria de estado de medioambiente y recursos naturales, 2001). Un registro similar a dicho valor, se encontró sólo en la estación T1. Los criterios de calidad de aguas internacionales para la protección de la vida acuática (EIFAC-FAO, EPA-USA), no hacen mención específica a concentraciones para tales nutrientes, tomando en consideración otras formas como ortofosfatos, amonio y nitrito (Parra et al., 2004). No obstante a lo anterior, es importante tomar en cuenta que las mediciones de los parámetros fueron hechas sólo en un período, por lo que podrían variar en otros períodos del año. Desde otro punto de vista, el análisis del agua mediante estos parámetros otorga una imagen fija (foto) de la situación existente en el momento de la toma de muestra, por el contrario el trabajo con macroinvertebrados puede otorgar una visión retrospectiva (película) de lo sucedido tiempo atrás (Alba-Tercedor, 1996). De este modo, se expone que las características físico-químicas favorables del agua, no coinciden en todas las estaciones con los organismos acuáticos que se desarrollan en ellas; como se discute a continuación.

Los macroinvertebrados colectados más frecuentes y abundantes fueron los Dugessidae, Oligochaeta y Chironomidae; representando en conjunto el 64 % del total de organismos hallados. Estos dos últimos están presentes en todos los sitios de muestreo. Los Dugessidae se caracterizan por ser tolerantes a una alta contaminación de origen orgánico (Mercado, 2003; McCafferty, 1983). El orden Oligochaeta tiene una alta tolerancia a una variedad de fuentes de estrés y al presentarse con una gran densidad, también es un claro indicador de contaminación orgánica (Barbour et al., 1996; Slepukhina, 1984; Lang, 1985). Los quironómidos habitan diferentes tipos de hábitat, particularmente en aquellos con escasa concentración de oxígeno disuelto y mayor cantidad de partículas en suspensión, condiciones que se incrementan en corrientes de

agua que tienen áreas ribereñas desprotegidas (Callisto et al., 1999). Cabe destacar que la cantidad de quironómidos disminuyó considerablemente en la estación E2, siendo sustituidos por los oligoquetos. Caenidae, Hydroptylidae, Hydropsychidae y Physidae también son abundantes en el curso principal del estero, característicos de aguas corrientes, pero soportan una alta carga orgánica (Figuroa, 2004). El mayor número de familias (23) se obtuvo en la estación E1 (cabecera), donde se encontraron abundantes exclusivamente los plecópteros Perlidae y efemerópteros Leptophlebiidae; ambas familias son consideradas como organismos sensibles al estrés ambiental y su presencia significa buenas condiciones (Merrit & Cummins, 1978). En la estación E3 (efluente PTAS), destaca el desarrollo de turbelarios, hirudíneas, quironómidos y oligoquetos, y en menor proporción efemerópteros y tricópteros, poblaciones dominantes comunes de encontrar en aguas que comienzan a mostrar síntomas de contaminación, o por el contrario, que comienzan a recuperarse (Roldán, 2003). La dominancia de los oligoquetos en las estaciones E2 y E3, por sobre de efemerópteros e incluso dípteros, podría atribuirse a contaminantes y nutrientes derivados de la actividad agrícola y de vertidos de efluentes residuales en el sistema fluvial, tal como se observó en el estudio de Martínez- Bastida et al. (2006).

En general, los parámetros comunitarios en cauces con características de ritrones, fondos de bolones y similar estructura ribereña, deberían presentar un comportamiento relativamente homogéneo (Whiles et al., 2000; Figuroa et al., 2003). Sin embargo, los índices comunitarios presentaron variaciones entre las estaciones, reflejando características diferentes entre las estaciones de muestreo. El ensamble heterogéneo de familias para el Grupo uno (E1), expresado en el alto valor del índice de Shannon H' y de equidad J, estaría relacionado con la vegetación ribereña y parámetros fisicoquímicos de calidad buenos. Cumming & Klug (1979), mencionan que la estructura y composición comunitaria del macrozoobentos se encuentra estrechamente relacionada con las zonas ribereñas del río, en términos de ingreso de energía que determina los cambios en el balance entre la heterotrofia y autotrofia en el continuo longitudinal del río, lo cual generaría una mayor diversidad de grupos con relación a las fuentes de energía disponibles para la estación E1, que es un cauce mas angosto como "galería". El Grupo dos (E2-E3) corresponde a la zona media del estero que recibe la presión del uso del suelo adyacente, correspondientes a terrenos agrícolas y de vertidos domésticos rurales. Esta zona se caracterizó por la presencia de Oligoquetos e Hirudíneas, los cuales

presentan tolerancia a la contaminación (Woodiwiss, 1964; Abel, 1989; Figueroa et al., 2003). El Grupo tres (E4-T1) es una zona que se encuentra con restricción y protección de los cursos naturales de agua según lo establecido en el plan regulador comunal. La estación E4 tiene un efecto combinado del impacto proveniente de la estación E3 y además de T1, por lo tanto E4, presenta condiciones biológicas relativamente malas reflejada en una mayor dominancia y abundancia de dugessidae, quironómidos y de organismos como physidae, hidropsychidos e hidroptilidos. El conglomerado que asocia a estos dos grupos, podría ser explicado porque la vida acuática se desarrolla principalmente entorno a plantas acuáticas y en cauces más anchos desprotegidos por la degradación de sus riberas (Bonada et al., 2000; Leiva, 2004).

Es importante mencionar que para el estero Limache y sus tributarios, no existía información específica que guardara relación a estudios de caracterización de macrofauna bentónica o que evaluara la calidad de aguas mediante índices bióticos y/o bioensayos. No obstante, se pudo encontrar antecedentes e información general de ciertos macroinvertebrados presentes en sitios del estero Limache o en el río Aconcagua; así como también la aplicación de índices bióticos para tramos y microcuencas de la región. En el documento de diagnóstico y clasificación de los cursos de agua de la cuenca del Aconcagua (DGA, 2004), se reconocen en el estero Limache siete taxones comunes de macroinvertebrados, de los cuales sólo Tipulidae y Culicidae, no se registraron en este trabajo. Según Marqués et al. (2001) ríos diferentes poseen hábitats similares que pueden también presentar comunidades bentónicas semejantes, esto hace posible la comparación de lo analizado en este estudio con otras cuencas de Chile. De las nueve familias halladas por Martínez (2005) en la metodología evaluativa rápida para ríos de la V región, sólo Thaumalidae y Curculionidae no fueron halladas en el área de estudio del estero Limache. La comparación con los macroinvertebrados hallados en el estero Quintero (Bustos & Valencia, 2006) indican que de los 35 taxa encontrados en la microcuenca, 19 se encuentran en el área de estudio del estero Limache. Estos estudios difieren en el perfil batimétrico, en las características de sustrato y en el tipo de red de captura, por lo que se estima que estudios más acabados con muestreos de todos los hábitats, mediante redes tipo surber y de tipo "D", permitirían describir una mayor riqueza taxonómica de macroinvertebrados en los cursos de aguas superficiales de la región. Además, en estos estudios, se destaca la pobreza de estos ecosistemas fluviales en

cuanto a familias de efemerópteros, plecópteros y tricópteros (EPT) y la abundancia de turbelarios, amphipodas, dípteros, coleópteros u odonatos.

Con respecto a la evaluación de la calidad de aguas, se distinguen algunas asociaciones con respecto a perturbaciones difusas o puntuales y las clasificaciones de calidad de aguas. Por ejemplo, para un tramo del río Aconcagua el índice SIGNAL 2 fue capaz de evidenciar un patrón claro y coherente con el impacto de una planta de áridos del lugar (Martínez, 2005). Para la cuenca del río Chillán la menor calidad se expresa mejor en verano y el deterioro de la calidad de la aguas es consecuencia de altos valores de nutrientes (principalmente amonio y fósforo), asociado a una alta contaminación orgánica (DBO<sub>5</sub> y DQO) (Figueroa, 2004). Para la microcuenca del estero Quintero que es un sector con características de potamón, se reconocen algunas condiciones de mala calidad de aguas relacionadas con los usos de suelo agrícola y pastoreo (Bustos & Valencia, 2006). En el estero Limache, comparando los resultados de la aplicación de los índices bióticos, al igual a lo observado por Figueroa (2004), estos permiten observar la misma tendencia general, definiendo zonas en buen estado y otras mas alteradas desde el punto de vista biológico. Sin embargo, el índice *ChBWMP* no discriminó claramente los sitios con mayor intervención antrópica, esto es: uso agrícola, extracción de áridos, caminos que cruzan el estero y especialmente la descarga del efluente de la planta de tratamiento, asignándole una calidad de agua regular o dudosa a todo el tramo del curso principal. Según Taylor (1997), esta técnica puede detectar solo impactos a gran escala y es inevitablemente menos sensible que el método cuantitativo. Por el contrario, los índices *ChIBF* y SIGNAL 2, sí permitieron observar los sitios de muestreo en relación a la presión que reciben, puesto que estos métodos ponderan la tolerancia y abundancia de cada familia o en el caso del SIGNAL 2, la diversidad de familias que no considera el *ChBMWP*. En relación a la precisión del método como resolución taxonómica, Figueroa et al. (2005) demuestra en la evaluación de pérdida de información entre dos niveles jerárquicos, que el nivel de familias en la identificación de macroinvertebrados bentónicos es suficiente para la realización de monitoreos ambientales.

Los resultados del bioensayo con *P. subcapitata* sugieren la presencia de elementos inhibitorios en las estaciones E2 y E3 (sector medio), que podrían estar asociado a plaguicidas provenientes de la actividad agrícola que se desarrolla en dicho sector y que inhibirían el efecto estimulador de los nutrientes especialmente del fósforo. Sin embargo, no se observó toxicidad crónica, ya que aguas abajo se recupera el crecimiento de la microalga, lo cual puede estar asociado al aporte del estero Lliu-Lliu diluyendo estos agentes inhibitorios aguas arriba. El crecimiento de la microalga en la estación E1 fue similar al control, reflejando una buena calidad de sus aguas, lo que correspondería a la zona de estudio menos afectada por la actividad humana.

La variación de la calidad del agua del estero Limache en función de los parámetros bióticos aplicados, tiende de “mala” a “regular”, en respuesta a la descarga del efluente; expresado en correlaciones significativas y positivas entre el índice biótico con la conductividad eléctrica y los sólidos disueltos totales. Estos resultados podrían estar relacionados con lo observado por Azrina et al. (2005), quien demostró a través del análisis estadístico de Pearson, que los índices de riqueza y de diversidad en macroinvertebrados son influenciados generalmente por los sólidos suspendidos totales y la conductividad del agua. Para este caso, se observó una correlación significativa entre los índices comunitarios y la respuesta de la microalga en los bioensayos de toxicidad. Por otra parte se observó, una correlación significativa e inversa entre la diversidad de especies y la materia orgánica (fósforo total y DBO<sub>5</sub>), lo que se refleja en la disminución de taxa menos tolerantes a la contaminación. Esto muestra que ambos métodos son complementarios y que al ser afectados los productores primarios también son afectados los consumidores.

Marques & Barbosa (2001) también obtuvieron resultados concordantes entre indicadores de mala calidad de agua y estaciones que mostraban condiciones eutróficas, alta conductividad y alto contenido de nutrientes. Según Pavé & Marchese (2005), en los ríos Saucecito y las Tunas, la demanda biológica de oxígeno sería el parámetro ambiental más incidente sobre la estructura bentónica de los ambientes de desechos cloacales e industriales, siendo los taxa dominantes los oligoquetos y quironómidos, organismos similares a los encontrados en este estudio. Sin embargo, las

concentraciones de  $\text{DBO}_5$  halladas en el estero Limache son mucho menores, incluso menores a 7,0 mg/L valor máximo para aguas naturales dado por Hellawell (1986).

Finalmente se puede señalar que al evaluar el efecto que la descarga de aguas domésticas tratadas, se pudo observar una importante variación espacial en la composición de las comunidades de macroinvertebrados acuáticos reflejada en los índices comunitarios, bióticos y similar respuesta se obtuvo con *P. subcapitata*. La integración de los métodos biológicos y químicos permite una mejor comprensión del funcionamiento del sistema acuático y acumula información para la calibración del Biocriterio (Seegert, 2000).

## 8. CONCLUSIONES

- Los parámetros físico químicos medidos indican una buena condición de calidad de las aguas a lo largo de las estaciones, así lo indica la comparación con la normativa asociada; clases de Excepción y Buena según el DC87/01, además de cumplir con los requisitos de la NCh1333 Of78. Sin embargo, los parámetros de fósforo total y nitrógeno total, no pudieron ser comparados con la normativa, ya que para éstos no se tienen valores de referencia.
- Las familias más frecuentes y abundantes fueron los Dugessidae, Oligochaetos y Chironomidae, destacando la pobreza de familias EPT. La evaluación de la calidad biológica de las aguas para el estero Limache, en respuesta al efluente de la planta de tratamiento, varió de “Mala” (E2 y E3) a “Regular” (E4 y T1), a excepción de lo que ocurre en la estación E1, que tiene características distintas de hábitat, que podría considerarse como una estación de referencia por sus buenas condiciones ambientales. Aguas debajo de la descarga del efluente, se observó una tendencia a mejorar la calidad de las aguas, expresado en correlaciones significativas y positivas para el *ChIBF* con la conductividad eléctrica y con los sólidos disueltos totales.
- Con respecto al bioensayo de toxicidad no se observó toxicidad crónica, pero sí una inhibición de la tasa de crecimiento de *P. subcapitata* en las estaciones E2 (Lo Gamboa) y E3 (PTAS), en relación al control. A partir de la buena correspondencia entre *ChIBF* y  $k$ , se elaboró un mapa de calidad de las aguas que establece las condiciones que existieron para el periodo estival 2006. Por otra parte, se observó una correlación significativa entre los índices comunitarios y la respuesta de la microalga en los bioensayos de toxicidad. Esto muestra que ambos métodos son complementarios y que al ser afectados los productores primarios también son afectados los consumidores.

- Finalmente, en el estero Limache se reconocen sectores con calidad compatible con la conservación de la biodiversidad acuática, especialmente en el área de la estación E1, que es importante mantener. Sin embargo, existen sectores con evidente deterioro, que requieren medidas de restauración, donde las herramientas como estos índices biológicos son adecuados como instrumentos de gestión para monitorear las medidas que se adopten en cuanto a la conservación de la biodiversidad del estero Limache.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abel P (1989) Water pollution biology. Ellis Horwood, Chichester, United kingdom 387 pp.
- Alba-Tercedor J & A Sánchez-Ortega (1988) Un método rápido y simple para evaluar la calidad de las aguas corrientes basado en Helawell 1978. *Limnética* 4: 51-56.
- Alba-Tercedor J (1996) Macroinvertebrados acuáticos y calidad de las aguas de los ríos. IV Simposio del Agua en Andalucía, Almería. vol II; 203-213.
- Antunes SC, De Figueiredo DR, Marques SM, Castro BB, Pereira R & F Gonçalves (2007) Evaluation of water column and sediment toxicity from an abandoned uranium mine using a battery of bioassays. *Science of the Total Environment*. 374, 2-3, 252-259.
- APHA (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation. USA. 1134 pp.
- Arenas J (1993) Macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores de calidad del agua del río Bío-Bío, Chile. Tesis de doctorado de la facultad de ciencias, Universidad de Concepción. 116 pp.
- Armitage PD, Moss D, Wright JF & MT Furse (1983) The performance of a new biological a water quality score system based on macroinvertebrate over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Research* 17:333-347.
- Azrina MZ, Yap CK, Rahim Ismail A, Ismail A & SG Tan (2005) Anthropogenic impacts on the distribution and biodiversity of benthic macroinvertebrates and water quality of the Langat River, Peninsular Malasia. *Ecotoxicology and Enviromental Safety*, 11 pp.
- Baeza M (1998) Ictiología del estero Limache. Tesis presentada a la Facultad de Ciencias de la Universidad de playa ancha para optar al Grado de Licenciado en Biología. 80 pp.
- Barbour MT, Gerritsen J, Griffith GE, Frydenborg R, McCarron E, White JS & ML Bastian (1996). A framework for biological criteria for Florida streams using benthic macroinvertebrates. *J. North Am. Benthol. Soc.* 15:185–211.

- Bray J & J Curtis (1957) An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs* 27: 325-349.
- Bonada N, Rieradevall M & N Prat (2000) Temporalidad y contaminación como claves para interpretar la biodiversidad de macroinvertebrados en un arroyo mediterráneo (Riera de Sant Cugat, Barcelona) *Limnética* 18:81-90
- Bustos G & J Valencia (2006) Caracterización del medio biótico y determinación de la calidad de las aguas de la microcuenca del estero Quintero V Región, Chile. Tesis presentada a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso para optar al Título Profesional de Ingeniero Ambiental. 152 pp.
- Callisto M, Moreno M & F Barbosa (1999) Hábitat Diversity and Benthic Functional Trophic Groups at Serra Do Cipó Southeast Brazil. *Biología Brazil* 61(2): 259- 266.
- Campos H, Arenas J, Jara C, Gonser T & R Prins (1984) Macrozoobentos y fauna íctica de las aguas limníticas de Chiloé y Aysén continentales (Chile). *Medio Ambiente* 7(1):52-64.
- Carrera C & K Fierro (2001) Manual de monitoreo: los macroinvertebrados acuáticos como Indicadores de la calidad del agua. *EcoCiencia*. Quito. 67 pp.
- Castillo GC & IC Vila (2000) Ecotoxicity assessment of metals and wastewater using multitrophic assays. *Environ Toxicol* 15: 370-375.
- Chessman B (2003) Signal 2.iv a scoring system for macroinvertebrates in australian rivers. User manual" Department of the Environment Heritage, GPO Box787,CAMBERRA.<http://www.environment.gov.au/water/rivers/nrhp/signal/pubs/signal.pdf>
- Chile. Ministerio de Obras Publicas (1978) Requisitos de calidad del agua para diferentes usos (potable, bebida de animales, riego, recreación y estética, y vida acuática).Norma Chilena Oficial NCh 1333 Of 78. Decreto N°867/78.
- Chutter F (1972) An empirical biotic index of the quality of water in South African streams and rivers. *Water Research* 6: 19- 30.
- CONAMA (2001) Norma de Calidad para la protección de las Aguas Continentales Superficiales, DC-N° 87/01. Comisión Nacional del Medio Ambiente CONAMA. Gobierno de Chile, 23 pp.
- CONAMA (2005) 56 Sitios de Estrategia de Conservación de la Biodiversidad V Región. <http://www.conama.cl/portal/1301/article-32018.html>.

- Cummnig K & J Klug (1979) Feeding ecology of stream invertebrates. Annual Review Ecology and Systemic 10: 147-172.
- DeWalt RE, Webb DW & MA Harris (1999) Summer (EPT) species richness and community structure in the lower Illinois River basin of Illinois. Great Lakes Entomologist 32: 115-132.
- DGA (2004) Diagnóstico y clasificación de los cursos y cuerpos de agua según objetivos de calidad. Cuenca del río Aconcagua, 160 pp.
- Diamond JM, Barbour MF & JM Stribling (1996) Characterizing and comparing bioassessment methods and their results. A perspective. J. N. Am. Benthol. Soc. 15(4): 713-727.
- Di Castri F (1974) Esbozo ecológico de Chile. Traducción de C. Núñez. C.P.E.I.P. Santiago. Chile
- Domínguez E & H Fernández (1998) Calidad de los ríos de la cuenca del Salí (Tucuman Argentina) medida por un índice biótico. 38 pp.
- Fernández H & E Domínguez (2001) Guía para la determinación de los artrópodos bentónicos Sudamericanos. Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Ciencias Naturales. Instituto M. Lillo. 237 pp.
- Figueroa R (1999) Macroinvertebrados bentónicos como indicadores biológicos de calidad de agua, Río Damas, Osorno, X Región de los Lagos, Chile. Tesis para optar al Magíster en Ciencias mención en Zoología: Pág 1-105.
- Figueroa R & E Araya (2001) Macroinvertebrados acuáticos del estero Nonguén. 15 pp. <http://www.eula.cl/proyectos>
- Figueroa R, Valdovinos C, Araya E & O Parra (2003) Macroinvertebrados bentónicos como indicadores de calidad de agua de ríos del Sur de Chile. Revista Chilena de Historia Natural 76: 275 –285.
- Figueroa R (2004) Calidad ambiental de la cuenca hidrográfica del río Chillán, VIII Región, Chile. Tesis presentada a la Facultad de ciencias, de la Universidad de Málaga para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas. 260 pp.
- Figueroa R, Ruíz VH, Encina-Montoya F & A Palma (2005) Simplificación en el uso de macroinvertebrados en la evaluación de la calidad de las aguas en sistemas fluviales. Interciencia 30(12): 770-775.
- Gajardo R (1994) La vegetación natural de Chile: clasificación y distribución geográfica. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 156 pp.

- Habit E, Parra O & C Valdovinos (2005) Ictiofauna de un sistema fluvial receptor de aguas servidas: respuestas a una nueva planta de tratamiento (río Quilque, Chile central). *Gayana (Concepc.)* 69 (1):94-103.
- Hauer F & G Lamberti (1996) *Methods in stream ecology*. Academic Press, New York, USA. 674 pp.
- Hellawell JM (1986) Biological indicators of freshwater pollution and environmental management. In: Melanby, K. (Ed.), *Pollution Monitoring Series*. Amsterdam, Elsevier 546pp.
- Hilsenhoff W (1988): Rapid field assessment of organic pollution with a family level biotic index. *Journal of the North American Benthological Society* 7: 65- 68.
- INN (1997) NCh 2313/15: Aguas residuales – Métodos de análisis Parte 15: Determinación de fósforo total.
- INN (1998) NCh 411/6. Of1998. Calidad del agua - Muestreo - Parte 6: Guía para el muestreo de ríos y cursos de agua. 15 pp.
- INN (2002) NCh 2706.Of2002 Calidad de agua – Bioensayo de inhibición de crecimiento de algas en agua dulce con *Selenastrum capricornutum* (*Raphidocelis subcapitata*).
- ISO (1989) Water quality – fresh water algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum* ISO 8692 Geneva, Switzerland, 6 pp.
- Karr JR (1999) Defining and measuring river health. *Freshwater Biology* 41:2 221-234.
- Kolkwitz R & M Marsson (1909) Ökologie de pflanzlichen Saprobien. *Ber. dtshen. bot. Ges.* 26: 505- 519.
- Lang C (1985) Eutrophication of lake Geneva indicated by the oligochaete communities of the profundal. *Hydrobiologia* 126: 237–24
- Leiva M (2004) Macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores de calidad de agua en la cuenca del estero Peu –Peu comuna de Lautaro IX Región de la Araucanía. Tesis presentada a la Facultad de Ciencias de la Universidad Católica de Temuco para optar al Grado de Licenciado en Recursos Naturales. 111 pp.
- Manantial Chile SA (2001) Memoria técnica: Descripción y antecedentes de la planta de tratamiento de aguas servidas. Informe técnico económico. 30 pp.
- Marqués M, Martínez E & J Rovira (2001) Los macroinvertebrados como índices de evaluación rápida de ecosistemas acuáticos contaminados por metales

pesados. Departamento Inter. Universitario de ecología, facultad de ciencias biológicas, Universidad de Madrid España.1: 1- 8.

- Marques M & F Barbosa (2001) Biological quality of waters from an impacted tropical watershed (middle Rio Doce basin, southeast Brazil), using benthic macroinvertebrate communities as an indicator. *Hidrobiología* 457: 69 – 76.
- Martinez-Bastida JJ, Arauzo M & M Valladolid (2006) Diagnostico de la calidad ambiental del río Oja (La Rioja, España) mediante el análisis de la comunidad de macroinvertebrados bentónicos. *Limnetica* 25 (3): 733-744
- Martínez D (2005) Macroinvertebrados bentónicos como índices evaluativos rápidos de calidad de agua de ríos de la Quinta región. Tesis presentada al Departamento de Ciencias Ambientales de la Universidad de Viña del Mar para optar al Grado de Licenciado en Ciencias Ambientales y al Título de Ingeniero en Medio Ambiente y Recursos Naturales, 60 pp.
- Maxted JR, Barbour T, Gerritsen J, Poretti V, Primrose N, Silvia A, Penrose D & R Renfrow (2000) Assessment framework for mid-Atlantic coastal plain stream using benthic macroinvertebrates. *Journal of the North American Benthological Society* 19: 128-144.
- McCafferty WP (1981) *Aquatic Entomology*, Science Books International, Boston, Massachusetts. 448 pp.
- Mercado M (2003) Documento técnico de consideraciones taxonómicas. Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile. 40 pp.
- Merritt RW & Cummins KW (1978) *An introduction to the aquatic insects of North America*. Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa.
- Metcalfe JL (1989) Biological water quality assessment of running waters based on macroinvertebrates communities: history and present status in Europe. *Environmental Pollution* 60: 101-139.
- Moya N, Oberdorff T, Bigorne R, Zubieta JP & J Camacho (2006) Comunidad de macroinvertebrados en ríos de la cuenca Chipiriri con condiciones de referencia y alteradas, estudio preliminar para la bio-evaluación de arroyos. [http://cabierta.uchile.cl/revista/30/mantenedor/sub/articulos\\_5.pdf](http://cabierta.uchile.cl/revista/30/mantenedor/sub/articulos_5.pdf)
- Newman P, Piavaux A & R Sweeting (1992). *River Water Quality. Ecological Assessment and Control*. Commission of the European Communities. EUR 14606 EN-FR, II. 751 p. Bruselas.

- Niemeyer FH & TP Cereceda (1984) Instituto Geográfico Militar (IGM). 3ª edición Tomo VII Hidrografía. Pág. 121-129
- Norris RH & CP Hawkins (2000) Monitoring river health. *Hydrobiologia* 435: 5-17
- OECD (1984) Algal growth inhibition test. Guideline for the tested chemical. N° 201. OECD, Geneva.
- O' Farrel I, Lombardo R, De Tezanos P & C Loez (2002) The assessment of water quality in the Lower Luján river (Buenos Aires, Argentina): phytoplankton and algal bioassays. *Environmental Pollution* 120: 207-218.
- Oscoz J, Campos F & MC Escala (2006) Variación de la comunidad de macroinvertebrados bentónicos en relación con la calidad de las aguas. *Limnetica* 25 (3): 683-692.
- Palma A, Figueroa R, Araya E, Berrios P & VH Ruíz (2002) Composición de la dieta de *Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792 (Pisces: Salmonidae) en un sistema de baja intervención antrópica: Estero Nonguén VIII Región, Chile. *Gayana* 66(2):129-139.
- Parra O, Valdovinos C, Habit E & R Figueroa (2004) Programa de Monitoreo de la Calidad del Agua del Sistema Río Biobío. Informe Técnico. Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, Universidad de Concepción. [http://www.eula.cl/normaweb/PMBB\\_extenso.pdf](http://www.eula.cl/normaweb/PMBB_extenso.pdf)
- Pavé PJ & M Marchese (2005) Invertebrados bentónicos como indicadores de calidad del agua en ríos urbanos (Paraná-Entre Ríos, Argentina). *Ecología Austral* 15: 183-197.
- Peña H (2005) El Valor de la Calidad (Entrevista). *InduAmbiente*. 74: 116-118.
- Prat N, A Munné, M Rieradevall, C Solá, N Bonada (2001) ECOBILL. Un protocolo para determinar el estado ecológico de los ríos mediterráneos. Departamento de Ecología. Universidad de Barcelona. 30 pp.
- Reynoldson TB, Norris RH, Resh VH, Day KE & DM Rosenberg (1997) The reference condition: a comparison of multimetric and multivariate approaches to assess water-quality impairment using benthic macroinvertebrates. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 16(4): 833-852.
- Rodriguez JR (2000) Tutorial básico de estadística. Stadhelp 2.0k – Medal Project. 39pp. <http://escuela.med.puc.cl/paginas/Postgrado/DiplomaAdminis/Estadistica.pdf>

- Roldán G (2003) Bioindicación de la calidad del agua en Colombia, Editorial Universidad de Antioquia, Medellín 170 pp.
- Rosenberg DM & VH Resh (1993) Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. Chapman & Hall, New York, New York, USA, 488 pp.
- Secretaria de estado de medioambiente y recursos naturales (2001) Norma de calidad de aguas y control de descargas de Republica Dominicana 53 pp. <http://www.procuraduria.gov.do/PGR.NET/Dependencias/Ambiente/Nosotros/Calidad%20del%20Agua.pdf>
- Seegert G (2000) The development, use, and misuse of biocriteria with an emphasis on the index of biotic integrity. *Environmental Science & Policy* 3:43-49.
- Slepukhina TD (1984) Comparison of different methods of water quality evaluation by means of oligochaetes. *Hydrobiology* 115: 183–186
- Taylor BR (1997) Rapid assessment procedures: radical reinvention or just sloppy science? *Human and Ecol. Risk Ass.* 3:1005–1016.
- USEPA (1994) Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. Report 600/4-91/002. EPA Office of Research and Development, Cincinnati, OH.
- USEPA (2003) Bioassessment and Biocriterio. [Http://www.epa.gov/waterscience/biocriteria/glossary.html](http://www.epa.gov/waterscience/biocriteria/glossary.html)
- Valdovinos C, Stuardo J & J Arenas (1993) Estructura comunitaria del Macrozoobentos de la zona de transición Epiritrón – Hipo Epiritrón del río Bío Bío. *Monografías científicas. EULA*.12: 217- 247.
- Vannote RL, Minshall GW, Cummins KW, Sedell JR & CE Cushing (1980) The river Continuum Concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37 (1): 130-37.
- Verdonschot PFM (2000) Integrated ecological assessment methods as a basis for sustainable catchment management. *Hydrobiologia* 422/423: 389-412.
- Villalobos M (2001) Calidad de las aguas de los ríos de Navarra. 13 pp.
- Wallin M, Wiederholm T, Johnson R, Owen R, Pollard P & T Warn (2002) Guidance on establishing reference conditions and ecological status class boundaries for inland surface waters. Water Framework Directive (WFD) Common Implementation Strategy Working Group 2.3 -REFCOND. 2nd draft., UE REFCOND Working Group 2.3.

- Weisser K (2003) Evaluación de la calidad del agua utilizando Bioindicadores en la Subcuenca del río Traiguén. Tesis presentada a la Facultad de Ciencias de la Universidad Católica de Temuco para optar al Grado de Licenciado en Recursos Naturales. 109 pp.
- Whiles MR, BL Brock, AC Franzen & SC Dinsmore (2000) Stream invertebrate communities, water quality, and land- use patterns in an agricultural drainage basin of northeastern Nebraska, USA. *Environmental Management* 26: 563-576.
- Woodiwiss F (1964) The biological system of stream classification used by Trend River Board. *Chemistry and Industry* 14: 443-447.
- Zanuzzi A, Pierotto M & C Prospero (2001) Ensayos de toxicidad en agua con especies de microalgas nativas de Córdoba, Argentina. <http://www.estrucplan.com.ar/Articulos/verarticulo.asp?IDArticulo=647>.

## **10. ANEXOS**



**Anexo II. Cálculo de los índices bióticos para la estación E2 (abril 2006)**

FAMILIAS	E2 (LO GAMBOA)							ChIBF		ChBMWP			SIGNAL 2				
	R1	R2	R3	R4	MEDIA	SUMA	Nº/m²	VT	P	VT	P/A	P	VT	P/A	Wi	P/A*Wi	P
Perlidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	1	0	0
Hydropsychidae	0	0	0	0	0	0	0	4	0	5	0	0	6	0	1	0	0
Leptoceridae	0	0	0	0	0	0	0	4	0	10	0	0	6	0	1	0	0
Glossosomatidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	5	0	1	0	0
Hydroptilidae	93	23	34	12	41	162	450	4	1800	6	1	6	4	1	5	5	20
Corydalidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	1	0	0
Coenagrionidae	0	0	0	0	0	0	0	9	0	6	0	0	2	0	1	0	0
Gomphidae	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8	0	0	5	0	1	0	0
Chironomidae	0	19	0	5	6	24	67	7	467	2	1	2	3	1	5	5	15
Simuliidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	5	0	0	0	0	1	0	0
Ephydriidae	6	5	3	1	4	15	42	6	250	2	1	2	2	1	2	2	3
Psychodidae	0	0	0	0	0	0	0	10	0	4	0	0	4	0	1	0	0
Athericidae	0	0	0	0	0	0	0	2	0	10	0	0	8	0	1	0	0
Ceratopogonidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	4	0	0	4	0	1	0	0
Leptophlebiidae	0	0	0	0	0	0	0	2	0	10	0	0	8	0	5	0	0
Baetidae	0	4	3	4	3	11	31	4	122	4	1	4	5	1	2	2	8
Caenidae	6	3	0	3	3	12	33	7	233	4	1	4	4	1	2	2	6
Dytiscidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	2	0	1	0	0
Hydraenidae	6	9	0	1	4	16	44	0	0	0	1	0	3	1	2	2	5
Elmidae	0	0	0	0	0	0	0	4	0	5	0	0	7	0	5	0	0
Gerridae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	4	0	1	0	0
Aphididae	4	7	2	0	3	13	36	0	0	0	1	0	0	1	2	2	0
Vellidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0
Ancylidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	4	0	1	0	0
Amnicolidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	5	0	0	5	0	1	0	0
Physidae	3	0	0	0	1	3	8	8	67	3	1	3	1	1	1	1	1
Aeglididae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	6	0	0	6	0	1	0	0
Hyalellidae	12	14	2	4	8	32	89	8	711	6	1	6	6	1	3	3	16
Dugessidae	286	185	73	75	155	619	1719	4	6878	5	1	5	2	1	5	5	10
Hirudinea	14	12	6	3	9	35	97	10	972	3	1	3	1	1	3	3	3
Oligochaeta	733	194	73	322	331	1322	3672	8	29378	1	1	1	3	1	5	5	15
Familia indet.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Acari	0	5	2	1	2	8	22	4	89	4	1	4	4	1	1	1	6
total						2288	6356		<b>40967</b>								
total*							<b>6231</b>										
<b>ChIBF</b>								<b>IV Malo</b>	<b>6,57</b>								
<b>ChBMWP</b>										<b>III Dudosa</b>	<b>40</b>						
<b>SIGNAL 2</b>																	<b>Muy Critica 2,77</b>

VT: valor de tolerancia; P: producto; P/A: presencia (1)/ausencia (0); Wi: factor de peso \*: abundancia que se utilizó para el cálculo los índices

**Anexo III. Cálculo de los índices bióticos para la estación E3 (abril 2006)**

FAMILIAS	E3 (efluente PTAS)						Nº/m²	CHIBF		ChBMWP			SIGNAL 2				
	R1	R2	R3	R4	MEDIA	SUMA		VT	P	VT	P/A	P	VT	P/A	Wi	P/A*Wi	P
Perlidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	1	0	0
Hydropsychidae	0	0	1	0	0	1	3	4	11	5	1	5	6	1	1	1	6
Leptoceridae	0	0	0	0	0	0	0	4	0	10	0	0	6	0	1	0	0
Glossosomatidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	5	0	1	0	0
Hydroptilidae	5	8	2	8	6	23	64	4	256	6	1	6	4	1	2	2	9
Corydalidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	1	0	0
Coenagrionidae	0	0	0	2	1	2	6	9	50	6	1	6	2	1	1	1	2
Gomphidae	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8	0	0	5	0	1	0	0
Chironomidae	46	11	10	7	19	74	206	7	1439	2	1	2	3	1	5	5	15
Simuliidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	5	0	0	0	0	1	0	0
Ephydriidae	8	18	5	14	11	45	125	6	750	2	1	2	2	1	3	3	6
Psychodidae	1	2	2	2	2	7	19	10	194	4	1	4	4	1	1	1	5
Athericidae	0	0	0	0	0	0	0	2	0	10	0	0	8	0	1	0	0
Ceratopogonidae	0	1	0	0	0	1	3	6	17	4	1	4	4	1	1	1	4
Leptophlebiidae	0	0	0	0	0	0	0	2	0	10	0	0	8	0	5	0	0
Baetidae	4	5	9	3	5	21	58	4	233	4	1	4	5	1	2	2	10
Caenidae	0	2	0	10	3	12	33	7	233	4	1	4	4	1	2	2	6
Dytiscidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	2	0	1	0	0
Hydraenidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0
Elmidae	0	0	0	0	0	0	0	4	0	5	0	0	7	0	5	0	0
Gerridae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	4	0	1	0	0
Aphididae	2	8	1	6	4	17	47	0	0	0	1	0	0	1	2	2	0
Vellidae	0	1	0	0	0	1	3	0	0	0	1	0	3	1	1	1	3
Ancylidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	4	0	1	0	0
Amnicolidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	5	0	0	5	0	1	0	0
Physidae	0	3	0	0	1	3	8	8	67	3	1	3	1	1	1	1	1
Aeglididae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	6	0	0	6	0	1	0	0
Hyalellidae	12	22	11	10	14	55	153	8	1222	6	1	6	6	1	4	4	22
Dugessidae	25	49	24	101	50	199	553	4	2211	5	1	5	2	1	5	5	10
Hirudinea	3	13	12	8	9	36	100	10	1000	3	1	3	1	1	3	3	3
Oligochaeta	44	43	31	426	136	544	1511	8	12089	1	1	1	3	1	5	5	15
Familia indet.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Acari	2	0	0	3	1	5	14	4	56	4	1	4	4	1	1	1	5
total						1047	2908		19828							41	124
total*							2856										
<b>CHIBF</b>								<b>IV Malo</b>	<b>6,94</b>								
<b>ChBMWP</b>										<b>III Dudosa</b>	<b>58</b>						
<b>SIGNAL 2</b>																<b>V Muy Crítica</b>	<b>3,00</b>

VT: valor de tolerancia; P: producto; P/A: presencia (1)/ausencia (0); Wi: factor de peso \*: abundancia que se utilizó para el cálculo los índices

Anexo IV. Cálculo de los índices bióticos para la estación E4 (abril 2006)

FAMILIAS	E4 (PUENTE LIMACHE)							ChIBF		ChBMWP			SIGNAL 2				
	R1	R2	R3	R4	MEDIA	SUMA	Nº/m²	VT	P	VT	P/A	P	VT	P/A	Wi	P/A*Wi	P
Perlidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	1	0	0
Hydropsychidae	95	52	75	79	75	301	836	4	3344	5	1	5	6	1	5	5	30
Leptoceridae	0	0	0	0	0	0	0	4	0	10	0	0	6	0	1	0	0
Glossosomatidae	0	5	0	0	1	5	14	0	0	8	1	8	5	1	1	1	6
Hydroptilidae	132	54	0	59	61	245	681	4	2722	6	1	6	4	1	5	5	20
Corydalidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	1	0	0
Coenagrionidae	0	0	0	0	0	0	0	9	0	6	0	0	2	0	1	0	0
Gomphidae	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8	0	0	5	0	1	0	0
Chironomidae	302	568	190	118	295	1178	3272	7	22906	2	1	2	3	1	5	5	15
Simuliidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	5	0	0	0	0	1	0	0
Ephydriidae	8	8	0	3	5	19	53	6	317	2	1	2	2	1	2	2	4
Psychodidae	0	0	0	0	0	0	0	10	0	4	0	0	4	0	1	0	0
Athericidae	0	0	0	0	0	0	0	2	0	10	0	0	8	0	1	0	0
Ceratopogonidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	4	0	0	4	0	1	0	0
Leptophlebiidae	0	0	0	0	0	0	0	2	0	10	0	0	8	0	5	0	0
Baetidae	5	15	0	10	8	30	83	4	333	4	1	4	5	1	3	2	12
Caenidae	417	115	210	89	208	831	2308	7	16158	4	1	4	4	1	5	5	20
Dytiscidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	2	0	1	0	0
Hydraenidae	11	16	0	7	9	34	94	0	0	0	1	0	3	1	3	3	8
Elmidae	0	0	0	0	0	0	0	4	0	5	0	0	7	0	5	0	0
Gerridae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	4	0	1	0	0
Aphididae	0	7	0	1	2	8	22	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0
Vellidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0
Ancylidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	4	0	1	0	0
Amnicolidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	5	0	0	5	0	1	0	0
Physidae	126	14	18	16	44	174	483	8	3867	3	1	3	1	1	5	5	5
Aeglididae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	6	0	0	6	0	1	0	0
Hyalellidae	46	32	43	41	41	162	450	8	3600	6	1	6	6	1	5	5	30
Dugessidae	708	618	393	631	588	2350	6528	4	26111	5	1	5	2	1	5	5	10
Hirudinea	25	30	0	12	17	67	186	10	1861	3	1	3	1	1	4	4	4
Oligochaeta	389	94	0	84	142	567	1575	8	12600	1	1	1	3	1	5	5	15
Familia indet.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Acari	16	30	0	18	16	64	178	4	711	4	1	4	4	1	4	4	17
total						6035	16764		<b>94531</b>							<b>58</b>	<b>197</b>
total*							<b>16647</b>										
ChIBF								<b>III Regular</b>	<b>5,68</b>								
ChBMWP											<b>III Dudosa</b>	<b>53</b>					
SIGNAL 2															<b>IV Critica</b>	<b>3,40</b>	

VT: valor de tolerancia; P: producto; P/A: presencia (1)/ausencia (0); Wi: factor de pesq \*: abundancia que se utilizó para el cálculo los índices

**Anexo V. Cálculo de los índices bióticos para la estación T1 (abril 2006)**

FAMILIAS	T1 (LLIU-LLIU)							ChIBF		ChBMWP			SIGNAL 2				
	R1	R2	R3	R4	MEDIA	SUMA	Nº/m²	VT	P	VT	P/A	P	VT	P/A	Wi	P/A*Wi	P
Perlidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	1	0	0
Hydropsychidae	5	3	3	301	78	312	867	4	3467	5	1	5	6	1	5	5	30
Leptoceridae	0	0	0	0	0	0	0	4	0	10	0	0	6	0	1	0	0
Glossosomatidae	0	0	0	19	5	19	53	0	0	8	1	8	5	1	2	2	10
Hydroptilidae	203	65	48	174	123	490	1361	4	5444	6	1	6	4	1	5	5	20
Corydalidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	1	0	0
Coenagrionidae	1	0	0	0	0	1	3	9	25	6	1	6	2	1	1	1	2
Gomphidae	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8	0	0	5	0	1	0	0
Chironomidae	299	8	30	703	260	1040	2889	7	20222	2	1	2	3	1	5	5	15
Simuliidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	5	0	0	0	0	1	0	0
Ephydriidae	2	0	2	7	3	11	31	6	183	2	1	2	2	1	2	2	3
Psychodidae	0	0	0	0	0	0	0	10	0	4	0	0	4	0	1	0	0
Athericidae	0	0	0	0	0	0	0	2	0	10	0	0	8	0	1	0	0
Ceratopogonidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	4	0	0	4	0	1	0	0
Leptophlebiidae	0	0	0	0	0	0	0	2	0	10	0	0	8	0	5	0	0
Baetidae	17	11	3	69	25	100	278	4	1111	4	1	4	5	1	5	5	25
Caenidae	24	3	24	8	15	59	164	7	1147	4	1	4	4	1	4	4	16
Dytiscidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	2	0	1	0	0
Hydraenidae	12	0	0	10	6	22	61	0	0	0	1	0	3	1	2	2	6
Elmidae	1	0	0	0	0	1	3	4	11	5	1	5	7	1	5	5	35
Gerridae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	4	0	1	0	0
Aphididae	2	0	0	2	1	4	11	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0
Vellidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0
Ancylidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	4	0	1	0	0
Amnicolidae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	5	0	0	5	0	1	0	0
Physidae	211	101	227	53	148	592	1644	8	13156	3	1	3	1	1	5	5	5
Aeglididae	0	0	0	0	0	0	0	6	0	6	0	0	6	0	1	0	0
Hyalellidae	0	0	0	1	0	1	3	8	22	6	1	6	6	1	1	1	6
Dugessidae	0	158	381	475	254	1014	2817	4	11267	5	1	5	2	1	5	5	10
Hirudinea	4	15	5	6	8	30	83	10	833	3	1	3	1	1	3	2	2
Oligochaeta	106	66	16	132	80	320	889	8	7111	1	1	1	3	1	5	5	15
Familia indet.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Acari	34	2	0	19	14	55	153	4	611	4	1	4	4	1	4	4	15
total						4075	11319		64611							61	216
total*							11236										
<b>ChIBF</b>								<b>III Regular</b>	<b>5,75</b>								
<b>ChBMWP</b>										<b>II Aceptable</b>	<b>63</b>						
<b>SIGNAL 2</b>																<b>IV Critica</b>	<b>3,54</b>

VT: valor de tolerancia; P: producto; P/A: presencia (1)/ausencia (0); Wi: factor de peso \*: abundancia que se utilizó para el cálculo los índices

**Anexo VI. Cálculos de los bioensayos con la microalga**

<b>Tasa de crecimiento (k) a las 96 horas</b>						
	R1	R2	R3	R4	Promedio	desv stand
CONTROL	1,86	1,80	1,74	1,77	1,79	0,05
E1	1,93	1,87	1,72	1,54	1,76	0,17
E2	1,27	1,17	1,16	1,41	1,25	0,12
E3	1,27	1,29	1,30	1,27	1,28	0,02
E4	1,65	1,63	1,69	1,72	1,67	0,04
T1	1,33	1,70	1,63	1,73	1,60	0,18

<b>Porcentaje de inhibición de la tasa de crecimiento</b>						
	R1	R2	R3	R4	Promedio	desv stand
CONTROL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
E1	-3,78	-3,92	0,98	13,07	1,59	7,99
E2	31,40	34,82	33,37	20,33	29,98	6,58
E3	31,40	28,23	25,04	28,53	28,30	2,60
E4	11,47	9,04	3,08	2,75	6,59	4,36
T1	28,41	5,64	6,04	2,27	10,59	12,00