



**Facultad de Ciencias**  
**Instituto de Ciencias Biológicas y Químicas**  
**Carrera de Ingeniería Ambiental**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD ECOTOXICOLÓGICA DE SUELOS  
AGRÍCOLAS Y SU RELACIÓN CON LOS NIVELES DE COBRE  
MEDIANTE BIOENSAYO DE TOXICIDAD CON *EISENIA FETIDA*  
(SAVIGNY) EN LA CUENCA DEL ACONCAGUA**

**Trabajo de Titulación para optar al  
Título de de Ingeniero Ambiental**

**GONZALO RICARDO ÁVILA ARREDONDO**

**Profesor Guía:** Hernán Gaete O.  
**Profesor Ayudante:** Alexander Neaman.

**Valparaíso, Julio 2005.**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>1. Resumen</b> .....	7
<b>2. Introducción</b> .....	8
2.1. Normativa ambiental para la protección del suelo .....	9
2.2. Caracterización del valle del Aconcagua. ....	10
2.2.1. Actividad minera .....	10
2.2.2. Actividad agrícola.....	11
2.2.3. Contaminación por cobre.....	11
2.3. Elementos traza.....	12
2.4. Aspectos generales del cobre.....	13
2.5. Propiedades biológicas de los suelos.....	14
2.6. Importancia de la lombriz de tierra.....	16
2.7. Biodisponibilidad de elementos químicos del suelo en lombrices.....	17
2.8. Estudios de los microcosmos .....	19
2.9. Bioensayo con lombrices .....	19
2.10. <i>Eisenia fetida</i> (Savigny 1826) .....	21
2.11. Exposición al cobre en lombrices de tierra .....	23
<b>3. Problema</b> .....	24
<b>4. Objetivos</b> .....	25
4.1. Objetivo general.....	25
4.2. Objetivos específicos.....	25
<b>5. Hipótesis</b> .....	25
<b>6. Materiales y Métodos</b> .....	26
6.1. Area de estudio.....	26
6.2. Muestreo y tratamiento de muestras.....	26
6.3. Caracterización de suelos.....	29
6.4. Implementación de la técnica de bioensayo .....	29
6.5. Bioensayo de toxicidad.....	30
6.5.1. Toxicidad aguda.....	30
6.5.2. Toxicidad crónica .....	30
6.6. Análisis estadístico .....	32

<b>7. Resultados</b> .....	35
7.1. Características del suelo.....	35
7.1.1. Textura, pH y materia orgánica.....	35
7.1.2. Cu total .....	36
7.1.3. Cu soluble.....	37
7.1.4. Ion cobre libre (Cu <sup>+2</sup> ).....	38
7.2. Bioensayos .....	40
7.2.1. Test de toxicidad aguda.....	40
7.2.2. Test de toxicidad crónica .....	40
7.2.3. Comparación entre las estaciones y el control .....	45
7.3. Correlación entra variables físicas .....	48
7.4. Correlación entre fracciones de cobre y parámetros biológicos .....	49
7.5. Relación entre parámetros de toxicidad crónica y fracciones de cobre a través de las estaciones de muestreo.....	50
7.5.1. Relación entre cobre y cambio de peso.....	50
7.5.2. Relación entre cobre y producción de cocoones promedio .....	51
7.5.3. Relación entre cobre y producción de juveniles promedio.....	52
7.5.4. Relación entre ion Cu <sup>+2</sup> y producción de cocoones/juveniles promedio .....	53
<b>8. Discusión</b> .....	54
8.1. Características fisico-químicas de las estaciones de muestreo.....	54
8.2. Toxicidad aguda.....	55
8.3. Toxicidad crónica.....	56
<b>9. Conclusión</b> .....	59
<b>10. Referencias Bibliograficas</b> .....	60

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1: Clasificación de la fauna del suelo según tamaño. ....	15
Tabla 2: Clasificación de Eisenia .....	21
Tabla 3. Localización de estaciones de muestreo, altura y cultivos agrícolas asociados. ....	27
Tabla 4. Descripción de bioensayo de toxicidad aguda y crónica (OECD 1984; OECD 2000). .....	33
Tabla 5. pH, % materia orgánica (M.O), % arcilla y textura de las estaciones de muestreo.	35
Tabla 6. Cu total, Cu en soluble y pCu <sup>+2</sup> en solución de KNO <sub>3</sub> de 0,1 M.....	39
Tabla 7. Resultados de bioensayo de toxicidad aguda y crónica: sobrevivencia (14 y 28 días), cambio promedio de peso como porcentaje del peso inicial (28 días), producción de cocoones promedio (28 días) y producción de juveniles promedio (56 días). ....	44
Tabla 8. Correlación de Pearson entre fracciones de cobre y parámetros biológicos, al inicio y al término del bioensayo. ....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1: Modelo esquemático de biodisponibilidad de químicos. ....	18
Fig. 2: <i>Eisenia fetida</i> .....	22
Fig. 3: Mapa de localización de las estaciones de muestreo en la Cuenca del Aconcagua. ..	28
Fig. 4: Contenedores experimentales para la realización de bioensayos agudos y crónicos .	31
Fig. 5: Procesamiento de las muestras.....	34
Fig. 6: Concentración de cobre total (mg/kg), a través de las estaciones de muestreo.....	36
Fig. 7: Concentración de cobre soluble (µg/kg) en las muestras de suelo (al inicio y al término del bioensayo). ....	37
Fig. 8: Concentración de ion Cu <sup>+2</sup> (µg/kg) en las muestras de suelo (al inicio y al término del bioensayo). ....	38
Fig. 9: Sobrevivencia promedio a través de las estaciones de muestreo. ....	40

Fig. 10: Cambio de peso promedio a través de las estaciones de muestreo.....	41
Fig. 11: Producción de cocoones promedio por <i>Eisenia fetida</i> a través de las estaciones de muestreo.....	42
Fig. 12: Producción de juveniles promedio a través de las estaciones de muestreo. ....	43
Fig. 13: Porcentaje de cambio de peso a través de las estaciones de muestreo con respecto al control (* significativamente diferente del control, test de Tukey: P= 0,05).....	45
Fig. 14: Porcentaje de producción de cocoones a través de las estaciones de muestreo con respecto al control. ....	46
Fig. 15: Porcentaje de la producción de juveniles través de las estaciones de muestreo con respecto al control (*significativamente diferente del control, P= 0,05). ....	47
Fig. 16: Concentración de Cu soluble en función del cobre total del suelo.....	48
Fig. 17: Concentración de Cu <sup>2+</sup> en función del cobre total en el suelo .....	48
Fig. 18: Relación entre Cu total y soluble con el cambio de peso a través de las estaciones de muestreo.....	50
Fig. 19: Relación entre Cu total y soluble con el número promedio de cocoones a través de las estaciones de muestreo. ....	51
Fig. 20: Relación entre Cu total y soluble con número promedio de juveniles a través de las estaciones de muestreo.....	52
Fig. 21: Relación entre Cu <sup>+2</sup> (antes y después del bioensayo) y número de cocoones y juveniles promedio a través de las estaciones de muestreo.....	53

## 1. RESUMEN

El evidente desarrollo de la actividad industrial, minera y agrícola, en la Cuenca del Aconcagua, una de las más importantes de la V Región, ha modificado por años el medio ambiente de diferentes formas, ejerciendo efectos sobre suelo, cuerpos de agua, atmósfera, biósfera y recursos naturales. La incompatibilidad del sector minero con el agrícola, se ha expresado en la acumulación histórica de elementos traza en los suelos.

El objetivo de este estudio, fue evaluar la calidad ecotoxicológica en sectores con influencia minera en suelos de uso agrícola, en la Cuenca del Aconcagua, mediante la aplicación de un bioensayo que mide toxicidad aguda y crónica sobre una especie de lombriz (*Eisenia fetida*) que se desarrolla en el suelo, con el fin de medir su respuesta a los niveles de cobre biodisponibles. Para ésto se recolectaron suelos en diez puntos diferentes, distribuidos en las localidades de Los Andes, San Felipe, Catemu y El Melón, en donde se midieron características físicas (pH, textura y % materia orgánica) y químicas (Cu total,  $\text{Cu}^{+2}$  en extracto de  $\text{KNO}_3$  0,1 M y Cu soluble).

Los resultados obtenidos muestran altas concentraciones de cobre en sectores más cercanos a las actividades mineras desarrolladas en la Cuenca. Las concentraciones de cobre en su forma biodisponible, no determinaron toxicidad aguda en las lombrices, en cambio, sí determinaron toxicidad crónica, reflejada en una influencia adversa en los parámetros reproductivos, encontrando una mayor relación con la producción de cocoones y juveniles, siendo este último parámetro el más sensible a las concentraciones de cobre biodisponible.

En conclusión, los suelos agrícolas estudiados, cercanos a actividad minera, presentaron una calidad ecotoxicológica adversa, observándose en los efectos tóxicos crónicos sobre *Eisenia fetida*.

## 2. INTRODUCCIÓN

En Chile, las zonas de potencial conflicto, minería del cobre y agricultura, se extienden desde la I región de Tarapacá a la VII región del Maule, especialmente donde coinciden los valles transversales (con la agricultura más productiva del país), con los mayores yacimientos de cobre o fundiciones más importantes, como la fundición El Paipote del Valle de Copiapó; mina El Saladillo y Fundición El Chagres del Valle del Aconcagua; minas en Los Bronces, Pudahuel y La Africana del Valle del Mapocho y mina El Teniente del Valle Cachapoal [1].

Los mayores yacimientos de cobre están en la Cordillera de los Andes o en áreas precordilleranas, lo que obliga a los centros de extracción a servirse de los ríos, usando aguas que más abajo sirven para abastecer a la población y regar los suelos agrícolas. Ésto genera el primer conflicto minero-agrícola, ya que los centros mineros devuelven el agua que extraen del río con su calidad disminuida, conteniendo relaves y residuos químicos de muy variada naturaleza. Además, la expansión minera exige el uso de caudales crecientes, en desmedro de la actividad agrícola, como ha ocurrido con las comunidades que habitan las riberas del Río Loa [1].

El segundo conflicto se genera por las emisiones fumígenas de fundiciones de mineras, que afectan drásticamente y rápidamente las áreas receptoras en sus recursos biológicos y tecnoestructurales. Las fundiciones en Chuquicamata (II región de Antofagasta), Potrerillos y Paipote (III región de Coquimbo), Chagres y Ventana (V región de Valparaíso) y Caletones (VI región del Libertador General Bernardo O'Higgins), están emitiendo grandes volúmenes de anhídrido sulfuroso, arsénico y particulados sólidos [1].

## 2.1. Normativa ambiental para la protección de los suelos

Actualmente, Chile no cuenta con un sistema normativo de cierre de faenas mineras, aunque en los últimos años algunas compañías mineras han presentado voluntariamente a través del Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental las acciones de cierre para sus operaciones [2].

La escasa normativa que existe para prevenir la contaminación del suelo es la siguiente:

### Comisión Nacional del Medio Ambiente

- Ley N° 19.300 de Bases del Medio Ambiente, en cuanto al sistema de responsabilidad por daño ambiental, que permite conseguir la restauración de sitios contaminados.

### Ministerio de Minería

- D.S. N° 185/91: Regula el funcionamiento de establecimientos emisores de SO<sub>2</sub>, material particulado y As en todo el territorio de la república.
- D.S. N° 86/70: Reglamento de construcción y operación de tranques de relaves.

### Ministerio de Agricultura

- D.L. N° 3.557/80: Protección agrícola, en su Art. 11 y siguientes, regula la situación que establecimientos industriales, fabriles o mineros que contaminen o puedan contaminar suelos agrícolas, exigiendo medidas mitigadoras de material particulado sedimentable.

## **2.2. Cuenca del Aconcagua**

### *2.2.1. Características generales*

En la zona central, la Cuenca del Aconcagua, que comprende el Valle, el río Aconcagua y sus tributarios, es una de las cuencas más importante de la V Región, la cual concentra aproximadamente el 70% de los recursos hídricos de la zona. La cuenca de este río tiene una superficie aproximada de 7.640 km<sup>2</sup>. El curso superior se considera hasta la ciudad de Los Andes y el valle medio hasta Chagres, este último, mide aproximadamente 3 km de ancho, siendo de borde muy irregular. A esta altura el valle se va ensanchando hacia las ciudades de Catemu al sur y Llay Llay al norte, apareciendo vegas y pantanos. A partir de Llay Llay el valle vuelve a crecer, formando una llanura con suelos de buena calidad y capacidad agrícola. El Valle de Catemu mide aproximadamente 15 km de largo de norte a sur. Desde la ciudad de Hijueta, el valle se curva al sur hasta la ciudad de La Calera y Nogales, con una superficie de 72 km<sup>2</sup> aproximadamente. El tramo inferior a partir de la ciudad de Quillota se va ensanchando hasta desembocar en la ciudad de Concón [3].

### *2.2.2. Actividad minera*

En la cuenca del Aconcagua existen nueve industrias mineras (plantas procesamiento de mineral) de importancia, siendo entre ellas Las Platas de Saladillo, El Cobre y la Fundición Chagres las mayores demandantes de agua. Las empresas mineras de mayor importancia son Río Blanco, Sur-Sur de la División Andina de Codelco, Andacollo y El Soldado [4]. Por otra parte en la cuenca del Aconcagua, se distribuyen diez tranques de relaves, para el tratamiento de materiales de cobre, plata y molibdeno, entre otros. Siete de ellos se encuentran en operación y tres en abandono, destacándose el tranque La Andina y El Soldado, con una producción diaria de 32.328 y 16.000 toneladas respectivamente [9].

### 2.2.3. *Actividad agrícola*

El Valle del río Aconcagua se caracteriza principalmente por el uso del suelo agrícola con cultivos perennes (principalmente frutales de hoja persistente y caduca, en menor escala flores y hortalizas como alcachofas) y en segundo lugar corresponde a la categoría de cultivos anuales (cereales, hortalizas, chacras y leguminosas). Las 40.200 ha del Valle del Río Aconcagua, son utilizadas principalmente para la producción de dos tipos de cultivos, el primero corresponde a cultivos perennes con un 52% de la superficie total y el segundo a cultivos anuales con un 37,3% [5].

### 2.2.4. *Contaminación por cobre*

Entre el año 1981 y 1990, el INDAP (Instituto de Desarrollo Agropecuario) estudió el contenido en suelo de algunos elementos metálicos, especialmente cobre, cuya presencia en descargas mineras había sido detectada desde el Valle del Río Huasco (III región de Atacama), hasta las vecindades del Lago General Carrera (XI región de Aisén del General Carlos Ibañez del Campo). El objetivo fue determinar la contaminación de suelos utilizados para la producción agrícola. También se estimó el nivel de disponibilidad de cobre en los vegetales (extraído por EDTA), además de su contenido total. En la V Región se estudió el Valle del Río Aconcagua y comunas de Puchuncaví y Quintero. Al inicio del estudio existía una gran inquietud entre los agricultores por una supuesta contaminación del Río Aconcagua, fuente de riego para el valle y parte de la Provincia de Chacabuco (Región Metropolitana de Santiago), con relaves descargados al Río Blanco desde un centro minero en Saladillo, además de las emisiones fumígenas de una fundición de cobre en Chagres. El estudio dividió el Valle del Río Aconcagua en áreas que estaban bajo la influencia de la fundición (Catemu), bajo la influencia de relaves por derrumbe de tranque en 1965 (Nogales) y un área "no contaminada" del valle, en donde se evidenció, que los parámetros de cobre total en esta última son similares a los del Elqui, con rango de variación (42-82 mg/kg.) y promedio dentro de niveles "normales" [1].

La alta cupricidad de los suelos de Catemu, producto de las emisiones de la fundición, pareciera estar asociada también a plomo y cadmio, que muestran notorios enriquecimientos en este sector. El umbral crítico supuesto de toxicidad de cobre, es claramente excedido en los suelos con contenidos total de cobre de 180 mg/kg [1].

Según el Informe País 2002 [6], el valle del Aconcagua presenta, en el estrato superficial del suelo, concentraciones promedio de 127 mg/kg de cobre total.

De Gregori et al. [7], estudió las concentraciones de cobre total en suelos agrícolas impactados y no impactados por la actividad minera, en tres regiones de Chile. En la V Región, se estudiaron los valles de Puchuncaví, Catemu y Casablanca, encontrando rangos de 104-530 mg/kg en Puchuncaví; 75-233 mg/kg en Catemu y en suelos de Casa Blanca, se encontraron concentraciones del orden de 35 mg/kg (éste fue usado como sitio de referencia por encontrarse en una zona sin influencia de la actividad minera). En la comuna de Puchuncaví se encontraron concentraciones de 443 mg/kg, niveles que reflejaron un importante grado de contaminación en el sector.

### **2.3. Elementos traza**

A diferencia de las sustancias artificiales, los elementos traza están siempre presentes en la corteza terrestre, dentro de éstos podemos encontrar Mn, Hg, V, Mo, Se, Sr, Te, Cd, Zn, Co, Cu y Ni. En general, el suelo presenta una gran afinidad por estos elementos, por lo que se espera que su ciclo ambiental esté determinado por fases de acumulación y residencia prolongada, siendo menor su dispersión y remoción [1]. La transferencia de los elementos traza entre el suelo y las plantas, forma parte de los ciclos bioquímicos, estos elementos fluyen entre los componentes bióticos y abióticos de la biósfera. Varios factores controlan los procesos de movilidad y disponibilidad de estos elementos y en general son de origen geoquímicos, climáticos, biológicos y antropogénicos. Los aportes antrópicos que se suman al contenido basal, cambian el estado de equilibrio original de la unidad receptora [8].

El suelo, es una mezcla heterogénea de diferentes organismos y minerales, sustancias orgánicas y no orgánicas presentes en las tres fases (sólida, líquida y gaseosa). Así, los metales trazas se encuentran formando diferentes especies, ligados externa e internamente

a varios componentes del suelo o a las fases líquidas. La solubilidad de los elementos, así como su concentración en la solución de suelo, depende del equilibrio de la solubilidad [8].

#### **2.4. Aspectos generales del cobre**

El cobre se encuentra en estado nativo, aunque a menudo, contiene pequeños porcentajes de plata, bismuto y plomo, también aparece combinado con oxígeno (formando óxidos cuprosos y cúpricos). Quizá los minerales del cobre más conocidos son los sulfatos mixtos de hierro y cobre, como la calcoporita o pirita de cobre y el sulfuro. También se encuentra en la malaquita y en la azuforita [9]. En el suelo, el cobre tiene una alta afinidad para asociarse a complejos orgánicos e inorgánicos. Sin embargo puede también encontrarse como ión soluble y complejo. En una forma soluble, está mucho más biodisponible y posee una mayor movilidad en el ambiente, que al estar ligado a la materia orgánica. (Alloway B., 1990 en [10]). Se sabe que la materia orgánica disuelta en el suelo, puede afectar la toxicidad y biodisponibilidad de los metales hacia las plantas. Los ácidos orgánicos, de bajo peso molecular (ácido cítrico y oxálicos), incrementan la toxicidad y biodisponibilidad del cobre, pero a bajas concentraciones de quelantes sintéticos, se reduce la toxicidad y biodisponibilidad, sin embargo, los ácido húmicos aparentemente son las sustancias orgánicas, más efectivas para desintoxicar el cobre del suelo, reduciendo su biodisponibilidad [11].

El cobre es un micro nutriente esencial para todos los organismos, pero puede ser tóxico en concentraciones específicas. El cobre es una de las siete microsustancias nutritivas tradicionales (Fe, Mn, B, Zn, Cu, Mo y Cl), esenciales para la nutrición normal de las plantas. Las concentraciones de 5 a 30 ppm son consideradas deficientes. En general, de 20 a 100 ppm en los tejidos de la mayor parte de las cosechas son considerados como tóxicos. La concentración media de cobre total en los suelos mundiales es de 30 mg/kg [12].

El uso del cobre como biocida para el control de microorganismos, hongos e insectos, ha sido usado en las prácticas agrícolas para el incremento de cultivos y la producción de alimentos. Se ha encontrado que esta práctica, puede aumentar las posibilidades de acumulación de este elemento en los ecosistemas agrícolas, reduciendo así la sustentabilidad de las cualidades del suelo, en viñedos y cultivos de paltos [13]-[14].

## 2.5. Propiedades biológicas de los suelos

El suelo, no es una aglomeración inorgánica de partículas minerales, sino que el hábitat de innumerables organismos, cuya diversidad podría ser mayor que la de las especies que viven fuera de este (AGL, Dirección de Fomento de Tierras y Aguas). En ninguna otra parte de la naturaleza las especies conviven tan estrechamente. Las biotas del suelo desempeñan funciones vitales para el medio ambiente y en particular para la agricultura, desde la regulación de las estructuras de los suelos y de los sistemas de aguas freáticas, hasta la degradación de contaminantes, ciclos de los nutrientes, fijación de carbono, protección vegetal, además de proporcionar el crecimiento vegetal y la purificación del ecosistema [16].

Los componentes orgánicos presentes en los suelos, se pueden agrupar en sustancias húmicas y no húmicas. Las primeras representan la parte estabilizada de la materia orgánica y la que confiere al suelo las propiedades atribuidas a este componente, la segunda está representada por la flora, la fauna y por las raíces de las plantas.

Los organismos que pueblan el suelo son muy variados, desempeñan variadas funciones y utilizan distintas fuentes para obtener energía y carbono para realizar sus actividades metabólicas. De acuerdo a esto se pueden agrupar en las siguientes formas [17]:

Autótrofos: son aquellos que obtienen su energía de la radiación solar y producen el carbono orgánico por fijación de  $\text{CO}_2$  de la atmósfera durante la fotosíntesis. Se encuentran aquí, entre otros, algas, bacterias fotosintéticas y plantas superiores.

Heterótrofos: utilizan los compuestos orgánicos como fuente de energía y de carbono, por medio de un proceso de oxidación enzimática con desprendimiento de  $\text{CO}_2$ . Segregan enzimas que actúan sobre los compuestos orgánicos fuera de la célula, provocando su degradación o su mineralización, en un proceso de reciclaje. A este grupo pertenecen los hongos, algunas bacterias y animales.

Quimiolitótrofos: obtienen la energía a partir de reacciones químicas y fijan el carbono orgánico a partir del  $\text{CO}_2$ . En este grupo se encuentran las bacterias *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*, que son indispensables en el proceso de nitrificación del N-orgánico.

Simbióticos: obtienen energía y nutrientes a partir de las plantas. Las bacterias fijadoras de N<sub>2</sub> de las leguminosas (*Rhizobium*) y las micorrizas son parte de este grupo.

**Tabla 1:** Clasificación de la fauna del suelo según su tamaño. [17]

<b>Tipo de Fauna</b>	<b>Principales grupos de representados</b>	
Microfauna (<100mm)	Protozoos	
	Nemátodos pequeños	
Mesofauna (100mm-1cm)	Nemátodos grandes	Ácaros
	Moluscos	Colémbolos
	Artrópodos pequeños	Miriápodos
		Lepidópteros
		Coleópteros
		Dípteros
		Isópteros
		Isópodos
Macrofauna (>1cm)	Macroartrópodos	
	Lombrices de tierra	
Megafauna	Invertebrados (crustáceos)	
(animales mayores)	Vertebrados (mamíferos roedores)	

## 2.6. Importancia de la lombriz de tierra

Las lombrices de tierra forman un componente dominante de la biomasa de la fauna del suelo, normalmente de 10 a 200 g de biomasa por m<sup>2</sup> [18]. Ciertas especies ocupan la capa superficial del suelo, otras las más profundas y otras se mueven verticalmente entre las capas del suelo, este último grupo ayuda a mezclar los constituyentes del suelo (Coleman et al, en [19]). A través de la alimentación y la formación de túneles, las lombrices ayudan a la descomposición e incorporación de la materia orgánica, incrementando el número de agregados con agua, mejorando la infiltración, aireación, drenaje e incrementando la actividad microbiana (Lee, 1985 en [18]). La agrupación de partículas ocurre mientras el suelo pasa a través de zonas digestivas de la lombriz, las partículas más grandes producen espacios más grandes, permitiendo que más agua infiltre en el suelo [19].

Las lombrices son altamente móviles en el suelo y por lo tanto tienen la habilidad de detectar y evitar áreas contaminadas (Yeardley et al., 1996 en [18]). Como resultado de su importancia ecológica, las lombrices de tierra han sido adoptadas como organismos indicadores, para medir el potencial impacto de sustancias químicas en los organismos del suelo.

La Dirección de Fomento de Tierras y Aguas (AGL) del Departamento de Agricultura de la FAO, en un informe sobre biodiversidad de los suelos y su función en la agricultura sostenible, ofrece algunos ejemplos de cómo una gestión inteligente de la biodiversidad de los suelos, ha beneficiado la productividad agrícola y la sustentabilidad de los ecosistemas agrícolas. Para dar marcha atrás a la degradación de los suelos a largo plazo, en los estados productores de té de Tamil Nadu, en la India, los investigadores inocularon lombrices y abonos orgánicos en surcos cavados entre las hileras de plantas de té, logrando aumentar la producción en un 275 % en comparación con los tratamientos tradicionales (fertilización inorgánica) o al aporte exclusivo de abonos orgánicos. Para recuperar el suelo y restablecer la productividad de té en la India y en otros países se están produciendo anualmente más de 20 millones de lombrices de tierra [20].

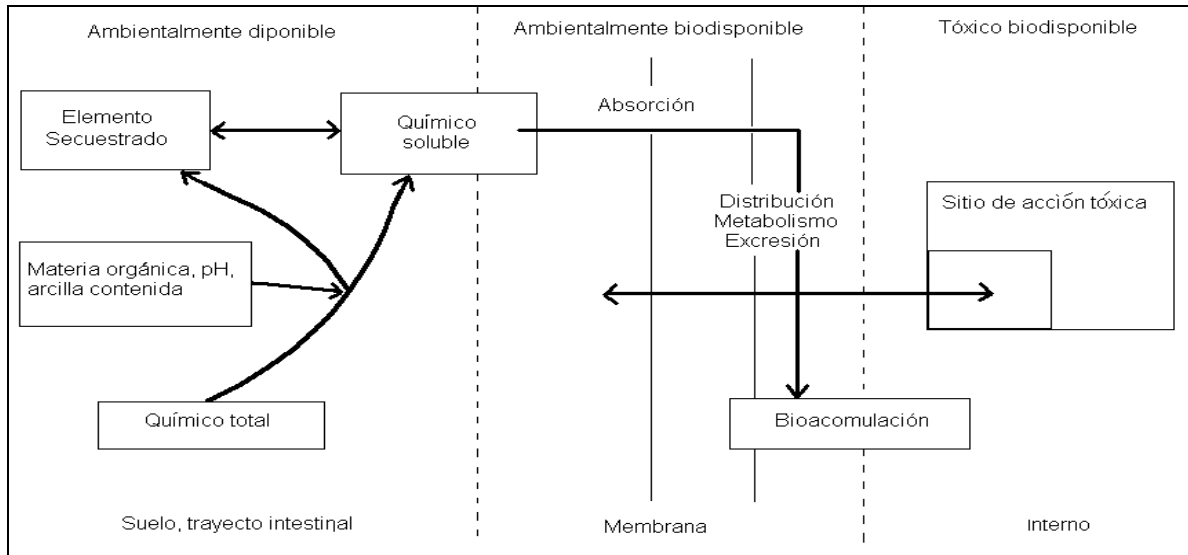
## 2.7. Biodisponibilidad de elementos químicos del suelo en lombrices

La disponibilidad de los elementos químicos en las lombrices de tierra, puede ser modificada drásticamente por las características físico-químicas del suelo. Si se expresa la exposición en concentración de químicos totales, no se refleja de forma clara los efectos en los organismos del suelo [21].

En la figura 1, se observa un modelo sobre biodisponibilidad de elementos químicos en el suelo (realizado por Lanno 2002, en [21]). Los elementos químicos presentes en el suelo, interaccionan con los constituyentes específicos de éste, de forma dinámica y a través del tiempo, lo que se expresa en un efecto llamado “secuestro” de una fracción del químico, haciéndolo poco disponible para la interacción con los receptores biológicos del suelo. Este secuestro, se puede entender, como el estado en que un contaminante es segregado y proporcionado con una baja disponibilidad a un receptor, presentándose con una limitada tasa en los procesos de interacción con la matriz circundante, como son las reacciones de transferencia y transformaciones químicas reversibles. El secuestro, también se puede entender en un contexto biológico, como la fracción que es biológicamente poco biodisponible en las lombrices. La porción del químico total en el suelo que no es secuestrado, se puede encontrar como la fracción ambientalmente disponible, para todos los distintos procesos de transporte en el suelo, incluyendo la interacción con las lombrices. Durante el movimiento a través del suelo, las lombrices se encuentran e interaccionan solamente con una porción específica del químico ambientalmente disponible. La interacción puede ser a través del contacto dérmico directo, con la solución química en el suelo o la atmósfera del suelo, o por la ingestión de fracciones específicas del suelo y la fracción del químico ambientalmente disponible con la cual las lombrices interaccionan. La fracción del químico total en el suelo, que está biodisponible ambientalmente, depende tanto de la fisiología y el comportamiento de la lombriz, como de la ruta de exposición. Una porción de la fracción ambientalmente biodisponible, puede ser absorbida por la membrana externa de la lombriz. Una vez absorbida esta fracción, el químico puede ser metabolizado y excretado, acumulado en otros tejidos, secuestrado internamente o transportado en el organismo al sitio de acción tóxica. La biodisponibilidad tóxica, se refiere a la porción del químico absorbido que llega a interactuar con el sitio de acción tóxica (SAT). El SAT representa un nivel de

umbral con efecto tóxico, que ocurre solo cuando la cantidad del químico presente en la SAT, esta saturando la carga y excediendo el umbral. Así, es posible tener acumulación de un compuesto sin toxicidad [21].

El estudio de los elementos químicos en el suelo y su disponibilidad en las lombrices de tierra, se puede llevar a acabo por medio de mediciones directas de biodisponibilidad biológica (bioacomulación y residuos críticos corporales), mediciones indirectas de biodisponibilidad biológica (biomarcadores y reproducción) o mediciones indirectas de elementos químicos biodisponibles (elementos químicos o fracciones de la fase sólida del suelo) [21].



**Fig. 1:** Modelo esquemático de biodisponibilidad de químicos.

## **2.8. Estudios de los microcosmos**

Los estudios ecológicos y ecotoxicológicos de las comunidades del suelo, han confiado a menudo en el acercamiento a los microcosmos [22]. Los microcosmos son pequeños subconjuntos cerrados, de componentes bióticos y abióticos de los ecosistemas. Los ecologistas del suelo utilizan el estudio del microcosmo porque los organismos del suelo son pequeños, más fáciles de manipular en el laboratorio que en terreno y las interacciones de los procesos, se pueden estudiar bajo condiciones controladas [23].

Aunque las pruebas a corto plazo en los microcosmos, pueden ser difíciles de extrapolar a terreno, pudiendo no capturar los efectos del ecosistema, los microcosmos se han utilizado para estudiar procesos del ecosistema, tales como la descomposición de la materia orgánica, y los resultados han convenido con las observaciones de terreno [24].

## **2.9. Bioensayos con lombrices de tierra**

Los bioensayos toxicológicos con lombrices de tierra, se han venido utilizando con gran intensidad a partir del año 1983, partiendo por Eduardo Clive, quién desarrolló la técnica de papel filtro y suelo artificial, en la valoración de toxicidad aguda en lombrices, siendo diseñada en un principio para la evaluación de riesgo para sustancias químicas, que eran recién certificadas como pesticidas. Ambas técnicas, al poco tiempo fueron adoptadas por la OECD (Organización para el Desarrollo y la Cooperación Económica) en el año 1984 y aceptadas como pruebas base de laboratorio para lombrices de tierra.

Las primeras pruebas de reproducción fueron desarrolladas por Van Gestel [25]. Más tarde, Kula y Larink propusieron una segunda prueba [18]. Este procedimiento expone a las lombrices durante cuatro semanas y luego incuban cocoones puestos en el mismo suelo durante cuatro semanas más. La prueba ha sido usada extensamente y ha sido estandarizada por la OECD en el año 2000 [26]. Gibbs desarrolla un tercer método para evaluar efectos tóxicos sobre reproducción [22], este método utiliza 10 réplicas por tratamiento, incubando solo dos lombrices por réplica, la prueba ha sido poco usada a pesar del potencial poder estadístico del diseño.

La utilización de suelos contaminados naturalmente, en la realización de bioensayos, ha demostrado una menor toxicidad en lombrices de tierra, debido a la menor disponibilidad de contaminantes, al estar presentes en una mezcla de éstos, en comparación con los suelos contaminados artificialmente [27].

Desde el año en que se comienzan a utilizar estas pruebas, se han venido desarrollado diferentes protocolos en congresos internacionales para el desarrollo de la toxicología en lombrices (International Workshops on Earthworm Ecotoxicology, IWEE), con el fin de avalar las modificaciones técnicas [28].

La lombriz de tierra, al ser más susceptibles a la contaminación por metales que muchos otros de los grupos de invertebrados, se convirtió en un organismo modelo para evaluar los efectos de sustancias químicas sobre invertebrados terrestres (Bengtsson et al., 1992 en [29]).

Las razones por las cuales Lanno R. [21], recomienda el uso de lombrices en estudios toxicológicos del suelo son:

- Las lombrices que residen en el suelo, están más o menos en constante contacto con alguna porción del suelo.
- Las lombrices residen en sitios contaminados, lo que permite la validación de estudios en terreno, sobre la disponibilidad de químicos en éstos.
- Las lombrices se encuentran en una gran variedad de tipos y horizontes de suelo.
- La superficie de la epidermis exterior de las lombrices está vascularizada y no presenta cutícula, lo que permite el contacto directo con los contaminantes del suelo.
- Las lombrices ingieren suelo o específicas fracciones de suelo, proporcionando diariamente un medio de contacto con los contaminantes.
- Las lombrices poseen una masa alargada, lo que permite determinar la concentración de contaminantes de forma individual.
- Existe entendimiento sobre su fisiología y el metabolismo de los metales.
- Se dispone de muchas técnicas de medición sobre los efectos en la población, organismos y niveles de suborganismos, en las lombrices.
- Algunas especies, como *Eisenia fetida*, pueden ser cultivadas bajo condiciones controladas de laboratorio y toleran muchos tipos de suelo, permitiendo el estudio de diferentes suelos.

## 2.10. *Eisenia fetida* (Savigny 1826)

Existen dos especies de *Eisenia*, estas son similares morfológicamente, pero una de ellas, *Eisenia fetida*, posee rayas transversales o bandas en sus segmentos y la otra, *Eisenia andrei*, carece de estas rayas y posee un color rojizo. Se ha determinado también la existencia de diferencias en los procesos de cruzamiento, con una mayor tasa de reproducción en *Eisenia andrei* [30].

**Tabla 2:** Clasificación de *Eisenia* [31].

<b>Phylum</b>	Annelida
<b>Clase</b>	Oligochaeta
<b>Orden</b>	Haplotaxida
<b>Familia</b>	Lumbricidae
<b>Genero</b>	<i>Eisenia</i>
<b>Especie</b>	<i>Eisenia fetida</i> / <i>Eisenia andrei</i>
<b>Nombre vulgar</b>	Lombriz californiana o tigre / roja

### 2.10.1. Descripción de la especie *Eisenia fetida* (Fig. 2)

Tiene un largo de 50 a 120 mm; peso de 200 a 600 mg y de 80 a 120 segmentos. Forma cilíndrica con aplastamiento cefálico y caudal, y ensanchamiento pubercular; con una sección posterior trapezoidal. Epitelio flexible. Mucus abundante, coloreado y de olor fétido. Pigmentación cutánea rojo violáceo, listado ocupando una banda media de segmentos (1/5 – 4/5), con gradientes anteroposteriores y dorso ventral; clitelo naranja; frecuentemente con una gran parte clara dorsal en 9-21 [31].

El clitelo o clitelium (Fig. 2), es una estructura que se encuentra en lombrices sexualmente maduras. Se localiza en la parte dorsal del cuerpo aproximadamente en el primer tercio anterior. En las diferentes especies varía mucho su posición y extensión.

La especie *Eisenia fetida* también se conoce como gusano del estiércol vegetal. Posee una distribución amplia (causado por el transporte humano). Esta especie tiende a habitar en madrigueras de poca profundidad en el suelo, en parte porque ella consume altos materiales en contenido orgánico, tal como vegetación y estiércol, que están generalmente cerca de la superficie en el horizonte de la materia orgánica [32].



**Fig. 2:** *Eisenia fetida*

#### 2.10.2. Características para su elección [40]

- Tiene un ciclo de vida corto, saliendo del huevo a las 3 o 4 semanas y alcanzando madurez a las 7 u 8 semanas, a 20° C.
- Es una especie muy prolífica, cada lombriz pone de 2 a 5 cocoones por semana, naciendo varias lombrices de cada cocoon.
- Posee una estabilidad genética y uniformidad de poblaciones.
- Se conocen sus hábitos nutricionales.
- Tiene un sencillo mantenimiento.
- Posee una disponibilidad durante todo el año.

## 2.11. Exposición al cobre en lombrices de tierra

Se ha descubierto que la asimilación del cobre por las lombrices de tierra, puede ocurrir por distintas formas, por ejemplo, la ingestión o adsorción pasiva. Existen pruebas para indicar que la ruta más significativa de respuesta a los metales disueltos en la solución de suelo, es la adsorción pasiva por la membrana dérmica [33]. Spurgeon et al., estudió la acumulación y la cinética de excreción del Cd, Cu, Pb, y Zn en *Eisenia fetida* en suelos contaminados natural y artificialmente, encontrando altas tasas de acumulación en los suelos más contaminados, diferencias importantes en la respuesta y el modelo de excreción para elementos esenciales y no esenciales (particularmente en suelos contaminados naturalmente). Para el Cu y Zn, como micronutrientes esenciales, se observó una contaminación inicial rápida, seguida por un equilibrio después de unos pocos días de exposición, encontrando una rápida excreción después de transferir las lombrices a suelos libres de contaminación. Para estos elementos, la concentración al interior del cuerpo, depende de la concentración externa. Así, la probabilidad de que las concentraciones excedan el umbral de toxicidad, aumentarían solamente durante el periodo de acumulación [34].

Se ha observado que en suelos contaminados naturalmente, altas concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn, pueden afectar la densidad, viabilidad, producción de cocoones, crecimiento y desarrollo sexual de las lombrices de tierra. Además, se ha encontrado que la producción de cocoones es uno de los parámetros más sensibles y la mortalidad, el menos sensible. Por otro lado se ha demostrado que los efectos tóxicos en lombrices son menos severos en suelos contaminados naturalmente, que en suelo artificialmente contaminados, debido a una mayor biodisponibilidad de metales en estos últimos. También se ha encontrado que las lombrices juveniles son más sensibles a los contaminantes que las adultas [27]-[29].

### 3. PROBLEMA

El suelo, además de actuar como sustento para el desarrollo de la vida vegetal, es un “ente biótico” en el cual los organismos que se desarrollan en él, juegan un papel importante, participando en su fisiología, a través de una serie de procesos bioquímicos que condicionan, en buena medida, el desarrollo y la productividad de los vegetales [17]. Un ejemplo de éstos organismos, son las lombrices de tierra, que desempeñan un papel significativo en la formación y aireación del suelo. La contaminación por elementos traza puede perturbar los ecosistemas del suelo afectando la estructura de la población de invertebrados que se desarrollan en él (Hopking, 1989 en [36]).

La actividad agrícola que se desarrolla en la Cuenca del Aconcagua, presenta una gran importancia en el desarrollo social y económico de esta zona, en donde las áreas cultivadas cubre una superficie de 40.000 ha. Ésta se contrapone con la eminente actividad minera que se desarrolla en esta zona y que por años ha contribuido a incrementar las concentraciones de cobre en los ecosistemas agrícolas, especialmente en áreas cercanas a industrias [7].

En nuestro país, el desarrollo de bioindicadores de contaminación de suelo, se ha desarrollado por medio de estudios que relacionan la acumulación de metales en cultivos de hortalizas [7]-[15]. Sin embargo, en Chile no se han desarrollado estudios sobre el uso de indicadores en la calidad de los suelos contaminados, utilizando organismos presentes en la fauna edáfica para cuantificar los efectos tóxicos de la acumulación de elementos traza por efecto de la actividad minera. Actualmente, se carece de información sobre el efecto de los suelos afectados por emisiones provenientes de sectores mineros sobre los microorganismos asociados a éste. Para ello, este estudio se planteó el siguiente objetivo.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo general

Evaluar la calidad ecotoxicológica de suelos agrícolas en sectores con influencia minera, mediante bioensayos con lombrices de tierra, en la Cuenca del Aconcagua.

### 4.2. Objetivos específicos

- Determinar las concentraciones de Cu en los suelos agrícolas del valle del Aconcagua.
- Determinar la toxicidad aguda y crónica de los suelos agrícolas sobre *Eisenia fetida*.
- Correlacionar la respuesta de *Eisenia fetida* obtenida de los bioensayos con las concentraciones de cobre determinadas en los suelos.

## 5. HIPÓTESIS

Esta investigación estableció la siguiente hipótesis de estudio:

“Se espera que si los suelos presentan características de ecotoxicidad, la respuesta de las lombrices se asocie, a la fracción de cobre biodisponible que se encuentra en éstos”.

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1. Área de estudio**

Para este estudio el área de muestreo seleccionada comprendió diferentes comunas a lo largo de la Cuenca del Aconcagua en la Región de Valparaíso: Los Andes, San Felipe, Chagres, Catemu y El Melón.

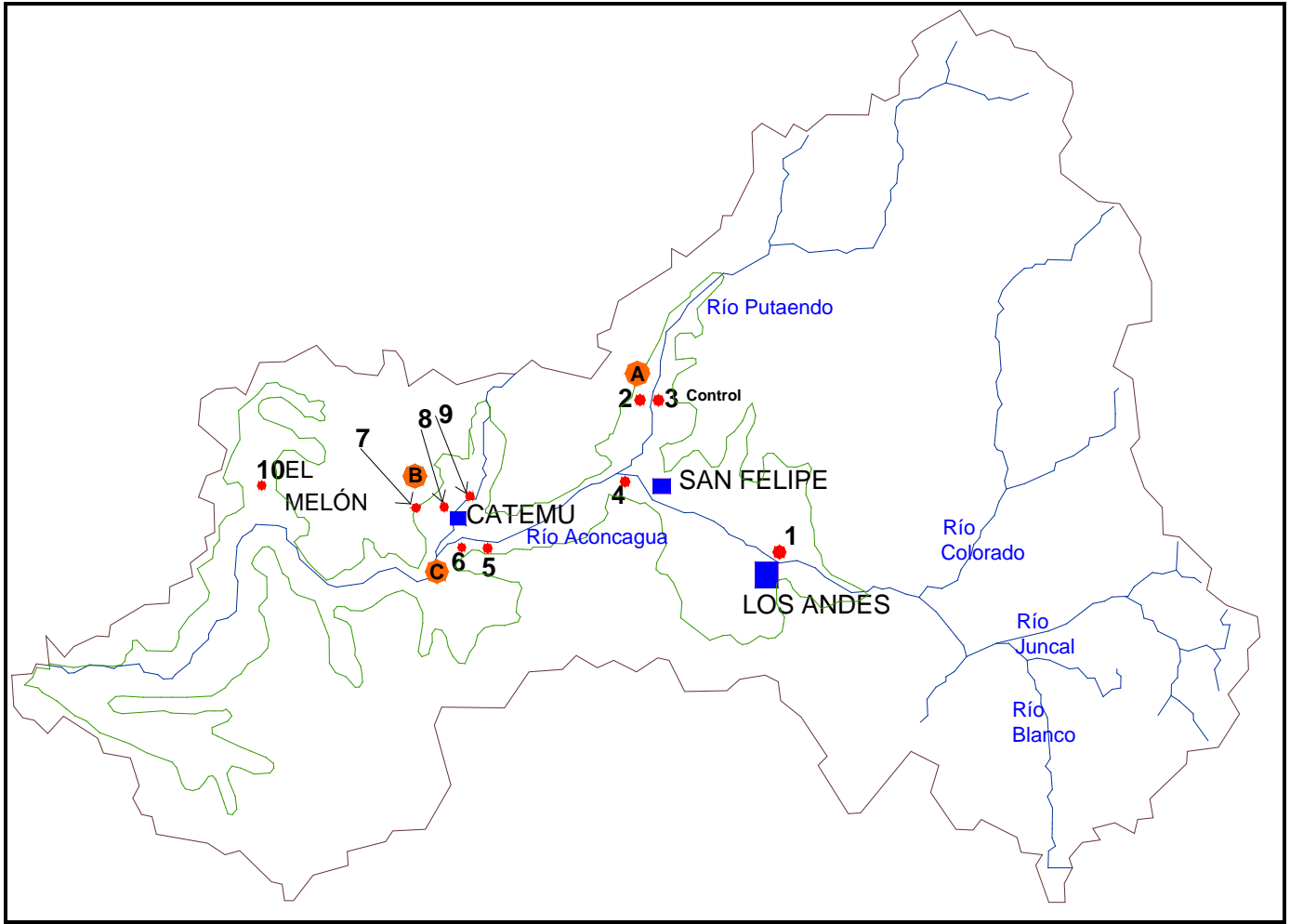
### **6.2. Muestreo y tratamiento de muestras**

Se tomaron muestras de suelo, con uso agrícola, en diez estaciones en la cuenca del Aconcagua (Fig. 3). Se determinaron sus coordenadas por medio de Sistema de Posición Geográfica (GPS) y también se registró el tipo de cultivo que se desarrollaba en cada estación (Tabla 4).

Aproximadamente 5 kg de suelo fueron tomados entre 0 a 20 cm de profundidad, removiendo la vegetación existente en éste, puestos en bolsas plásticas y transportados al laboratorio. Una vez en el laboratorio fueron secados en un horno a 60° durante 2 días, seguidamente se desagregaron en un mortero de porcelana y luego se tamizaron a 2 mm.

**Tabla 3.** Localización de estaciones de muestreo, altura y cultivos agrícolas asociados.

Estaciones	Comuna	Coordenadas			Altura m	Cultivo
		o	'	"		
1	Los Andes	32	49	16,6	822	Árbol frutal
		70	35	28,9		
2	San Felipe	32	41	25,7	770	Sin cultivo
		70	47	25,7		
3	San Felipe	32	41	56,9	711	Viñedo
		70	45	40,3		
4	San Felipe	32	44	12,4	598	Viñedo
		70	46	21,0		
5	Chagres	32	48	24,2	424	Papas
		70	57	08,7		
6	Chagres	32	48	03,1	417	Sin cultivo
		70	57	36,2		
7	Catemu	32	46	20,7	449	Viñedos
		70	59	20,5		
8	Catemu	32	46	39,5	429	Duraznos
		70	58	50,0		
9	Catemu	32	46	39,6	428	Papas
		70	58	49,9		
10	El Melón	32	39	25,7	285	Papas
		71	17	54,8		



— = Límite de la Cuenca.    — = Zona de uso Agrícola.    ● = Estaciones de muestreo.  
 — = Río.    ● = Actividad minera (A: Relave Bellavista; B: Relave Catemu; C: Fundición Chagres).

**Fig. 3:** Mapa de localización de las estaciones de muestreo en la Cuenca del Aconcagua.

### **6.3. Caracterización de suelos**

Se determinó la distribución del tamaño de partículas por método de hidrómetro, usando el procedimiento simplificado de Van der Watt [37]. La materia orgánica fue determinada por oxidación, con mezcla de dicromato de sodio y ácido sulfúrico de acuerdo al método de Sadzawka et al. [38].

Se determinó la concentración de cobre total del suelo por espectroscopía de absorción atómica (AAS), después una digestión ácida de las muestras [39]. Para la determinación de  $\text{Cu}^{+2}$ , pH y cobre soluble, se usó una solución de  $\text{KNO}_3$  0,1 M como extractor (5 g de suelo más 12,5 ml solución, razón suelo/solución de 1/2,5) usando una solución diluida de sal neutra (semejante a  $\text{KNO}_3$  0,1 M), recomendado para análisis de fracciones biodisponibles de elementos traza en el suelo [8]. La extracción se desarrolló en duplicado y los valores medios se muestran en la tabla 6. Para determinar la concentración de Cu soluble se utilizó espectroscopía de absorción atómica (AAS). Para determinar  $\text{pCu}^{+2}$  ( $\text{pCu}^{+2} = -\log a_{\text{Cu}^{+2}}$ , donde  $a_{\text{Cu}^{+2}}$  es la actividad de  $\text{Cu}^{+2}$  libre) se usó electrodo de ión selectivo para Cu (ISE). Las mediciones de las fracciones de cobre se midieron al comienzo del estudio y al término de las ocho semanas de estudio. Todos estos análisis se llevaron a cabo en los laboratorios de suelo, de la Escuela de Agronomía de la P.U.C.V.

### **6.4. Implementación de la técnica de bioensayo**

Las lombrices se obtuvieron en un centro de lombricultura en el sector de Tabolango, V Región (Ecosol: Productos y Servicios Agroecológicos) y se mantuvieron alimentadas con estiércol de vaca seco para aclimatarlas una semana antes de comenzar el ensayo, que se desarrollaron durante los meses de noviembre 2004 y febrero 2005. Los ensayos se llevaron a cabo en los laboratorios de la Facultad de Ciencia de la Universidad de Valparaíso.

## 6.5. Bioensayo de toxicidad

### 6.5.1. Toxicidad aguda

Para determinar la toxicidad aguda se llevó a cabo un bioensayo según el método descrito por la OECD 1984 [40] (Tabla 4). Para ello fueron ajustados 500 g de suelo a una humedad del 40% con agua destilada, para luego ser colocados en contenedores experimentales de un volumen de 750 ml (Fig. 4). Se incubaron diez lombrices jóvenes de la especie *Eisenia fetida* (sin desarrollo de clitelium) en cada uno de los contenedores. No se aplicó comida, con el fin de no aumentar la materia orgánica y así afectar la biodisponibilidad del cobre en el suelo, al actuar como componente coloidal [11]. Se llevaron a cabo tres replicas por muestra. La mortalidad de juveniles fue medida al final de un periodo de dos semanas.

### 6.5.2. Toxicidad crónica

Para determinar la toxicidad crónica se llevó a cabo un bioensayo según el método descrito por la OECD 2000 [26], (Tabla 4). Para ello fueron ajustados 500 g de suelo a una humedad del 40% con agua destilada, para luego ser colocados en contenedores experimentales de un volumen de 750 ml (Fig. 4). Se incubaron diez lombrices adultas de la especie *Eisenia fetida* (clitelium visible), anteriormente lavadas, secadas y pesadas. Se realizaron ocho replicas por cada muestra, durante un periodo de ocho semanas. La humedad fue mantenida por medio de la aplicación de 40 ml de agua destilada una vez a la semana. El alimento utilizado fue estiércol de vaca seco, 5 g de éste fue agregado a cada contenedor experimental, humedecido con 5 ml de agua destilada, se le proporcionó en dos ocasiones, al principio del bioensayo y al término de las primeras cuatro semanas de bioensayo. El alimento fue probado una semana antes de la realización del test para aclimatar las lombrices.

Al término de las primeras cuatro semanas, se determinó la cantidad, peso de las lombrices y el número de cocoones producidos. Al finalizar las 8 semanas, se determinó la cantidad de juveniles producidos.

Durante el periodo del bioensayo, la temperatura ambiental fue mantenida en un rango de 22-24 °C, con una iluminación de 400 lux y un fotoperiodo de 12 hora de luz, 12 de en oscuridad.



**Fig. 4:** Contenedores experimentales para la realización de bioensayos agudos y crónicos

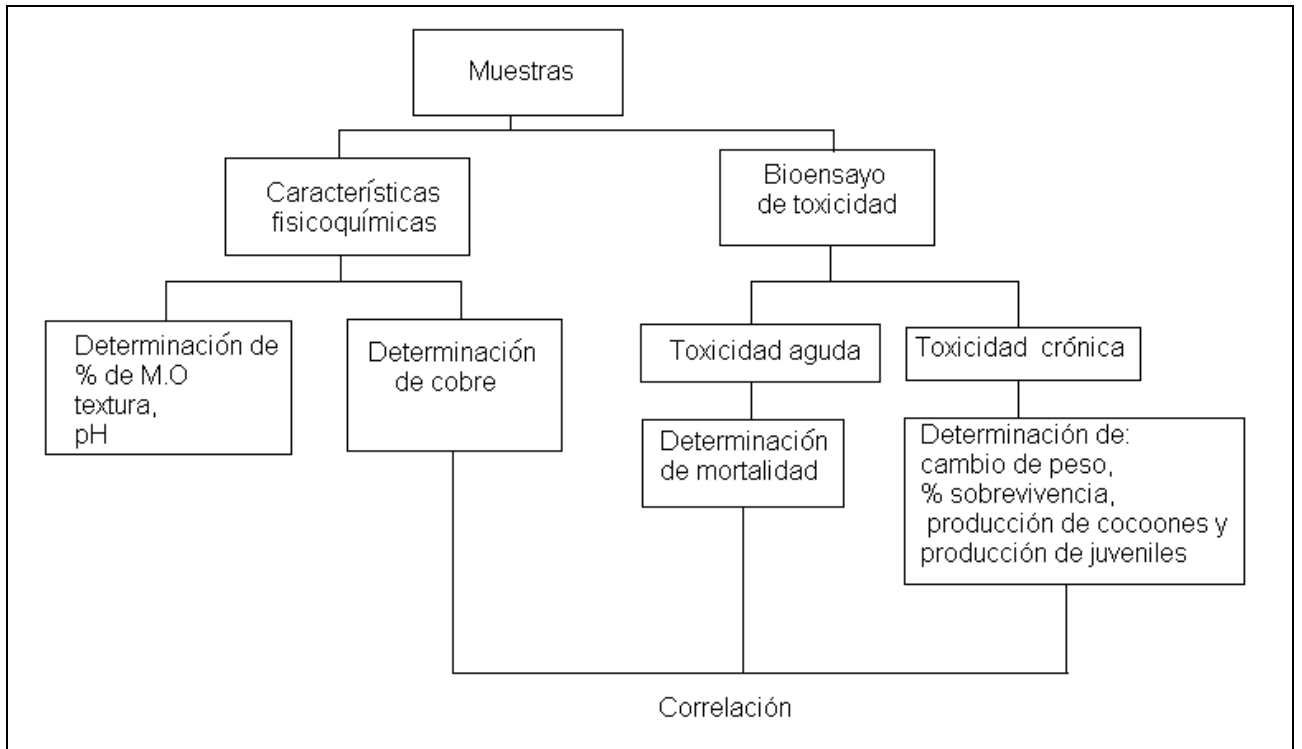
## 6.6. Análisis estadístico

Para determinar la toxicidad crónica de los suelos sobre *Eisenia fetida*, se sometió a prueba de hipótesis de no diferencias significativas entre el porcentaje de cambio de peso promedio en lombrices adultas, tasa de producción promedio de cocoones y producción promedio de juveniles, de las estaciones de muestreo, mediante test Anova. Para determinar la diferencia de éstos con el control se realizó un test de Tukey de comparación múltiple. Para correlacionar los resultados de los bioensayos y las concentraciones de Cu, se realizó un análisis de correlación de Pearson, mediante el programa SYSTAT versión 5.0.

En la figura 5, se muestra un diagrama que sintetiza el procesamiento descrito en la metodología.

**Tabla 4.** Descripción de bioensayo de toxicidad aguda y crónica (OECD 1984; OECD 2000).

<b>Tipo de Prueba</b>	<b>Test de toxicidad aguda</b>	<b>Test de toxicidad crónica</b>
<b>Organismo de prueba</b>	<i>Eisenia fetida</i>	<i>Eisenia fetida</i>
<b>Tiempo de exposición</b>	14 días	56 días
<b>Temperatura</b>	22-24°C	22-24°C
<b>Calidad de luz</b>	Blanca fría, 400 lux.	Blanca fría, 400 lux.
<b>Fotoperiodo</b>	12 horas de luz, 12 de oscuridad	12 horas de luz, 12 de oscuridad
<b>Aireación</b>	Semanal	Semanal
<b>Humedad</b>	40%	40%
<b>Edad de organismo</b>	Juveniles	Adultos
<b>N° de replicas</b>	3	8
<b>N° de organismos</b>	10	10
<b>Respuesta</b>	Sobrevivencia	Sobrevivencia Cambio de peso Producción de cocoones Producción de juveniles



**Fig. 5:** Procesamiento de las muestras.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Características del suelo

#### 7.1.1. Textura, pH y materia orgánica

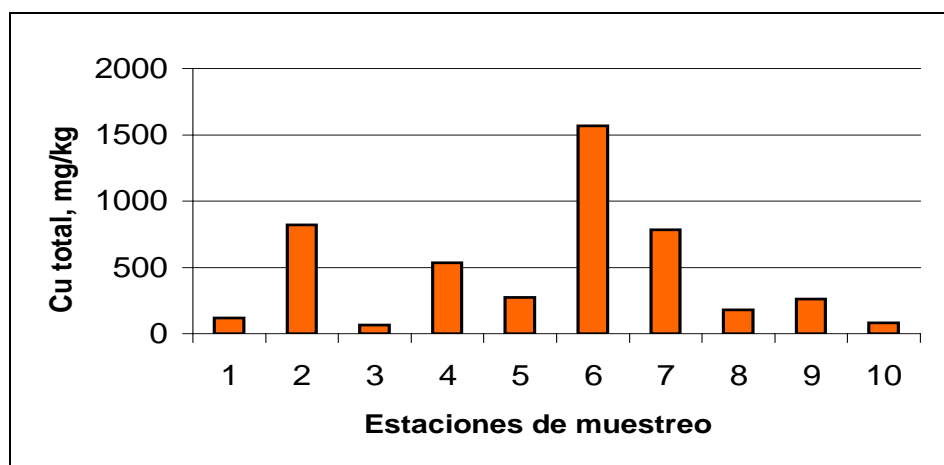
Las mediciones realizadas en los suelos muestreados, indicaron valores similares de pH a través de las estaciones, con un promedio de 6,7 y una variación entre 6,3 en la estación 1 y 7,1 en la estación 9. El porcentaje de materia orgánica promedio fue de un 4% y varió entre 1,9% en la estación 5 y 6,2% en la estación 7. Los suelos recolectados presentaron una textura media a gruesa (Tabla 5).

**Tabla 5.** pH, % materia orgánica (M.O) y textura de las estaciones de muestreo.

<b>Estación</b>	<b>pH</b>	<b>M.O %</b>	<b>Textura</b>
1	6,3	4,6	Franca
2	6,9	4,1	Franca
3	6,7	1,9	Franco arenosa
4	6,4	5,0	Franca
5	7,1	1,9	Franco limosa
6	6,9	2,9	Franco arenosa
7	6,5	6,2	Areno franca
8	6,4	3,1	Franco arenosa
9	7,1	3,2	Franca
10	6,7	4,7	Franco arenosa
Promedio	6,7	4	

### 7.1.2. *Cu total*

Los resultados de cobre total, muestran que las concentraciones fluctuaron entre 65 mg/kg en la estación 3 (correspondiente a la estación control) y 1.569 mg/kg en la estación 6 (Tabla 6). En la figura 6, se observa que las estaciones más cercanas a sectores con actividad minera, como es el caso de las estaciones 2, 6 y 7, las concentraciones de cobre total superaron los 700 mg/kg, seguida por la estación 4, que presentó una concentración de 533 mg/kg. Las estaciones 5, 8 y 9 ubicadas aproximadamente a 1 km de distancia de los sectores con actividad minera mostraron concentraciones entre 180 y 270 mg/kg. En las estaciones 1, 3 y 10 se encontraron las menores concentraciones, presentando valores entre 65 y 120 mg/kg.



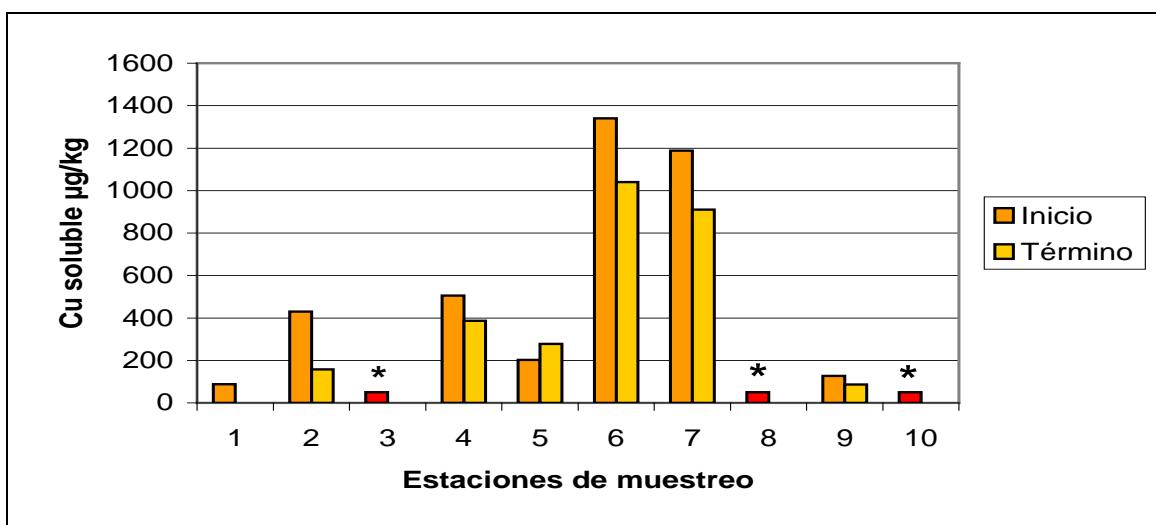
**Fig. 6:** Concentración de cobre total (mg/kg), a través de las estaciones de muestreo.

### 7.1.3. Cu soluble

Los resultados de Cu soluble, al inicio del bioensayo, mostraron concentraciones que fluctuaron entre niveles menores a 75  $\mu\text{g}/\text{kg}$  en las estaciones 3, 8 y 10, y 1.340  $\mu\text{g}/\text{kg}$  en la estación 6 (Tabla 6).

En la figura 7, se observa que el Cu soluble, al inicio del bioensayo, fue mayor en las estaciones 6 y 7, ubicadas en las cercanías de la fundición Chagres, con concentraciones entre 1.100 y 1.400  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Las estaciones 2 y 4 presentaron concentraciones entre 400 y 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y las estaciones 1, 5 y 9, de 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Las estaciones 3, 8 y 10 presentaron concentraciones menores a 75  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , las que se indican en la figura como barras con asteriscos. Al comparar las mediciones realizadas al inicio del bioensayo con las del término de éste, se observa que al terminar el bioensayo, nueve estaciones presentaron una disminución entre un 22% en la estación 6 y un 100% en la estación 1. En la estación 5, se observó un aumento de cobre soluble en un 37%.

El Cu soluble representó menos de 1% del cobre total (Tabla 6), fluctuando entre 0,05% en la estación 9 y 0,15% en la estación 7.



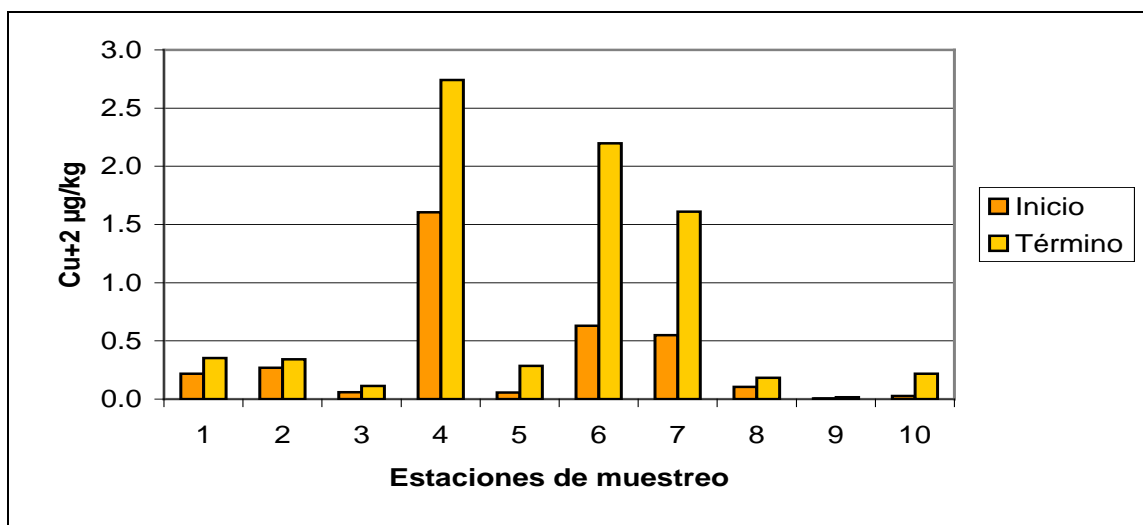
**Fig. 7:** Concentración de cobre soluble ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) en las muestras de suelo (al inicio y al término de los bioensayos).

#### 7.1.4. Ión cobre libre ( $\text{Cu}^{+2}$ )

Los resultados de  $\text{Cu}^{+2}$ , al inicio del bioensayo, mostraron concentraciones que fluctuaron entre  $5 \cdot 10^{-3} \mu\text{g}/\text{kg}$  en la estación 9 y  $1,6 \mu\text{g}/\text{kg}$  en la estación 4 (Tabla 6).

Como se observa en la figura 8, siete de las estaciones, mostraron concentraciones bajo los  $0,5 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Las estaciones 4, 6 y 7 presentaron concentraciones mayores a  $0,5 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Además se observa que las concentraciones de  $\text{Cu}^{+2}$ , al término del bioensayo, presentaron un aumento con respecto a las concentraciones iniciales, en todas las estaciones, variando entre un 26% en la estación 2 y un 700% en la estación 10.

Con respecto al porcentaje de  $\text{Cu}^{+2}$ , en el Cu soluble (Tabla 6), estos fueron menores al 1% en todas las estaciones de muestreo. Los porcentajes variaron entre 0,004% en la estación 9 y 0,3% en la estación 4.



**Fig. 8:** Concentración de ion cobre libre  $\text{Cu}^{+2}$  ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) en las muestras de suelo (al inicio y al término del bioensayo).

**Tabla 6.** Cu total, Cu en soluble y pCu<sup>+2</sup> en solución de KNO<sub>3</sub> de 0,1 M.

Estación	Cu total mg/kg*	Cu soluble µg/kg*	Cu soluble µg/kg**	Cu <sup>+2</sup> µg/kg*	Cu <sup>+2</sup> µg/kg**	pCu <sup>+2</sup> *	pCu <sup>+2</sup> **	Cu soluble, % del Cu total*	Cu soluble, % del Cu total**	Cu <sup>+2</sup> , % de Cu soluble*	Cu <sup>+2</sup> , % de Cu soluble**
1	117	88	Bd*	0,218	0,354	8,9	8,7	0.076	-	0,244	-
2	822	430	158	0,270	0,341	8,8	8,7	0.052	0,019	0,063	0,217
3	65	Bd*	Bd*	0,060	0,113	9,4	9,1	-	-	-	-
4	533	505	387	1,605	2,742	8,0	7,8	0.095	0,073	0,317	0,709
5	274	203	278	0,058	0,286	9,4	8,7	0.074	0,101	0,028	0,103
6	1569	1340	1040	0,630	2,197	8,4	7,9	0.085	0,066	0,047	0,211
7	782	1188	910	0,550	1,611	8,5	8,0	0.152	0,116	0,046	0,177
8	180	Bd*	Bd*	0,105	0,184	9,2	8,9	-	-	-	-
9	261	128	87	0,005	0,016	10,5	10,0	0.049	0,033	0,004	0,018
10	82	Bd*	Bd*	0,028	0,219	9,8	8,9	-	-	-	-

\* = Medición al inicio del bioensayo.

\*\* = Medición al término del bioensayo.

Bd\* = bajo límites de detección con AAS (< 75 µg/kg)

pCu<sup>+2</sup> = -log a<sub>Cu<sup>+2</sup></sub>, donde a<sub>Cu<sup>+2</sup></sub> es la actividad de Cu<sup>+2</sup> libre.

## 7.2. Bioensayos

### 7.2.1. Test de toxicidad aguda

Los resultados en el test de toxicidad aguda en *Eisenia fetida*, después del periodo de 2 semanas, mostraron una sobrevivencia de un 100% en todas las estaciones de muestreo estudiadas (Tabla 7).

### 7.2.2. Test de toxicidad crónica

#### a) Sobrevivencia

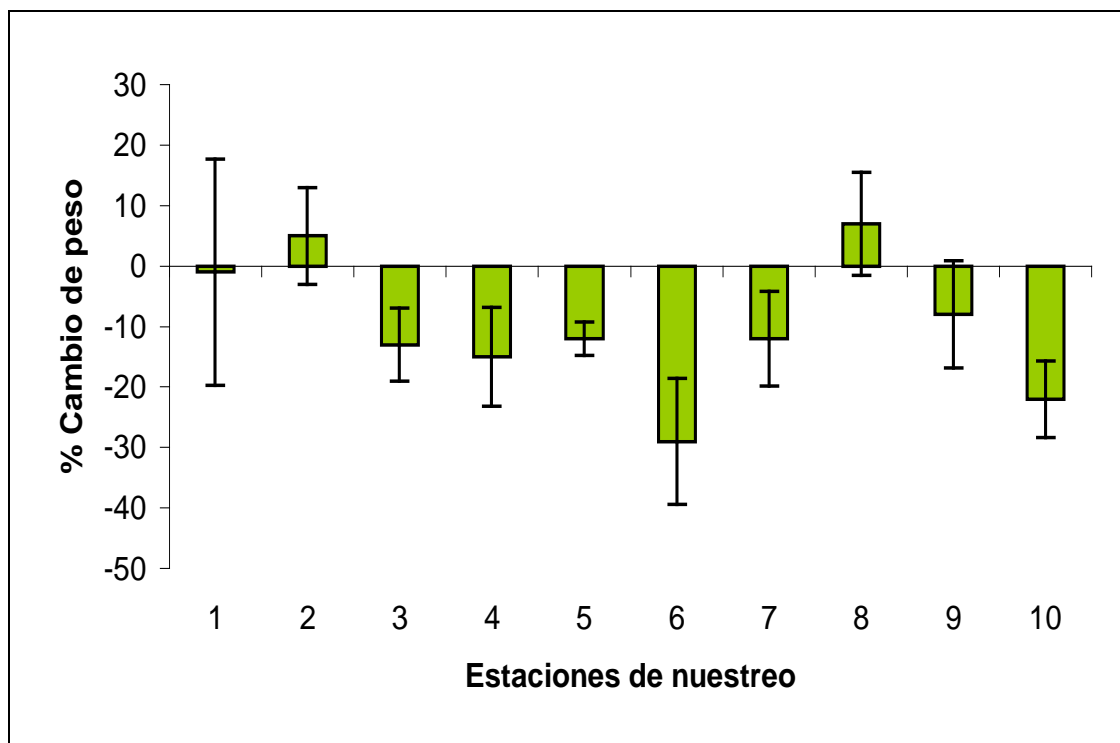
En la figura 9, se observa que después de 28 días de exposición, las lombrices presentaron una sobrevivencia promedio de un 100% para siete estaciones de muestreo. Tres de las estaciones presentaron una sobrevivencia bajo el 100%, observando valores mínimos de un 93% y 95% en las estaciones 4 y 6 respectivamente. (Tabla 7).



**Fig. 9:** Sobrevivencia promedio a través de las estaciones de muestreo.

## b) Cambio de peso

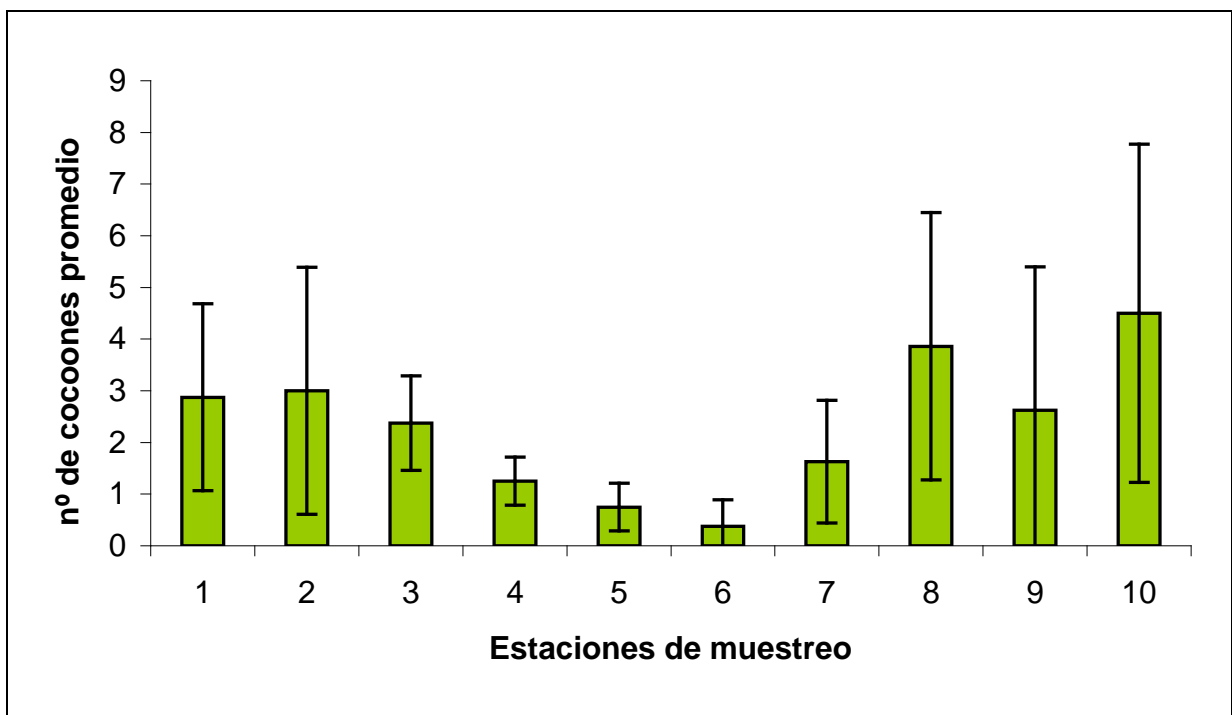
En la figura 10, se observa que después de 28 días de exposición, todas las estaciones de muestreo presentaron cambios en el peso promedio, con respecto al su peso inicial. En ocho estaciones se observó una reducción de peso, las estaciones 6 y 10 presentaron pérdidas de 26% y 22% respectivamente; las estaciones 3, 4, 5, 7, y 9, variaron entre un 8% y un 15%, para terminar con la estación 1 que presentó una reducción de un 1%. Dos estaciones presentaron un aumento en el peso inicial promedio, con un 5% y 7% en las estaciones 2 y 8, respectivamente (Tabla 7).



**Fig. 10:** Cambio de peso promedio a través de las estaciones de muestreo.

### c) Producción de cocoones

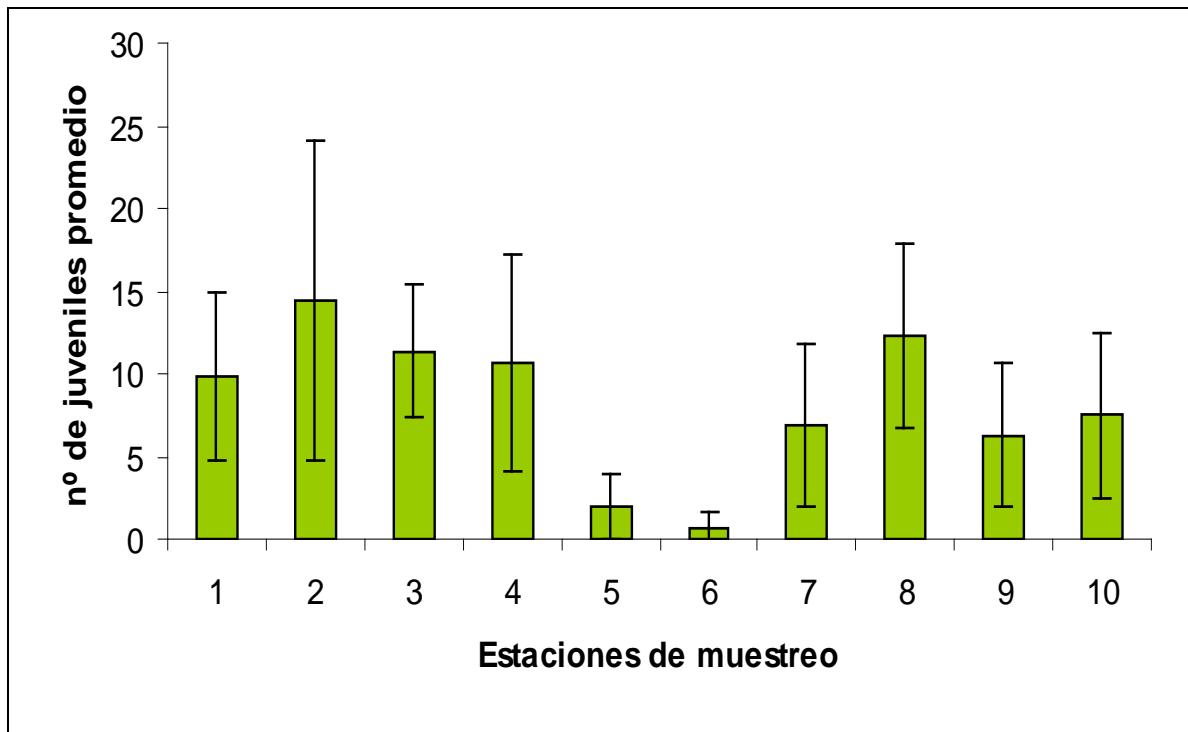
En la figura 11, se observa que al finalizar los 28 días de exposición, las estaciones mostraron una variación en la producción de cocoones promedio, entre 0,4 cocoones en la estación 6 y 4,5 cocoones en la estación 10. Se destaca que las estaciones 8 y 10 presentaron producciones entre 4 y 5 cocoones promedio, seguidas por la estaciones 1, 2, 3 y 9 con producciones entre 2 y 3 cocoones. Las estaciones 4, 5, 6, y 7 presentaron una producción bajo los 2 cocoones promedio (Tabla 7).



**Fig. 11:** Producción de cocoones promedio por *Eisenia fetida* a través de las estaciones de muestreo.

#### d) Producción de juveniles

En la figura 12, se observa que al finalizar los 56 días de exposición, la producción de juveniles promedio, varió entre 1 juvenil en la estación 6 y 14 juveniles en la estación 2. Las estaciones 1, 3, 4 y 8 presentaron una producción entre 12 y 10 juveniles promedio, seguidas por las estaciones 7, 9 y 10 que presentaron una producción entre los 8 y 6 juveniles promedio. Las estaciones 5 y 6, presentaron una producción de 2 y 1 juvenil respectivamente (Tabla 7).



**Fig. 12:** Producción de juveniles promedio a través de las estaciones de muestreo.

**Tabla 7.** Resultados de bioensayo de toxicidad aguda y crónica: sobrevivencia (14 y 28 días), cambio promedio de peso como porcentaje del peso inicial (28 días), producción de cocoones promedio (28 días) y producción de juveniles promedio (56 días).

Estación de muestreo	Toxicidad aguda		Toxicidad crónica		
	% Sobrevivencia 14 días	% Sobrevivencia 28 días	% Cambio de peso	Producción de cocoones	Producción de juveniles
1	100	100	-1	2,9	10
2	100	100	5*	3,0	14
3	100	100	-13	2,4	11
4	100	93	-15	1,3	11
5	100	100	-12	0,8	2*
6	100	95	-29	0,4	1*
7	100	100	-12	1,6	7
8	100	100	7*	3,9	12
9	100	98	-8	2,6	6
10	100	100	-22	4,5	8

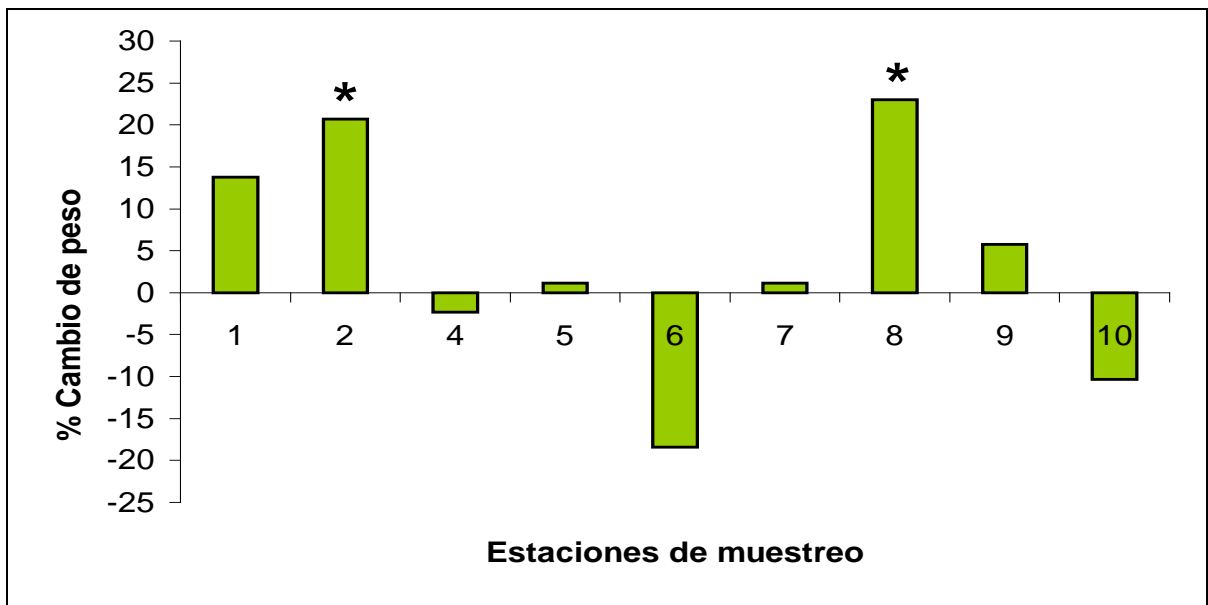
\* significativamente diferente con respecto al control, P =0,05

### 7.2.3. Comparación entre las estaciones y el control

En las figuras 13, 14 y 15 se observan las diferencias de las estaciones de muestreo con respecto al control (estación 3), representadas como porcentajes, para los parámetros biológicos en el cambio de peso, producción de cocoones y producción de juveniles.

#### a) Cambio de peso

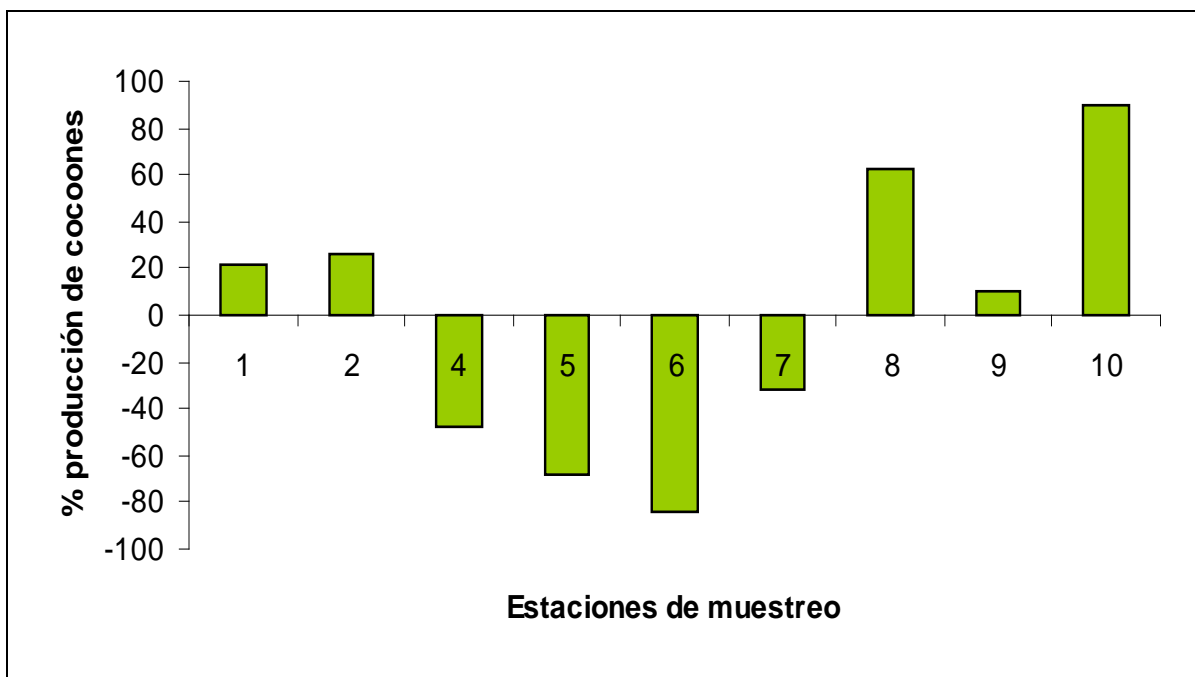
En la figura 13, se observa que tres estaciones de muestreo mostraron una diferencia negativa en el cambio de peso promedio con respecto al control (4, 6, 10), destacando una diferencia negativa mayor, en la estación 6 con un 18%. De las seis estaciones que superaron al control, las estaciones 2 y 8 se diferenciaron significativamente. Los valores variaron entre un aumento de 1% en la estación 7 y un 23% en la estación 8.



**Fig. 13:** Porcentaje de cambio de peso a través de las estaciones de muestreo con respecto al control (\* significativamente diferente del control, test de Tukey:  $P=0,05$ ).

*b) Producción de cocoones*

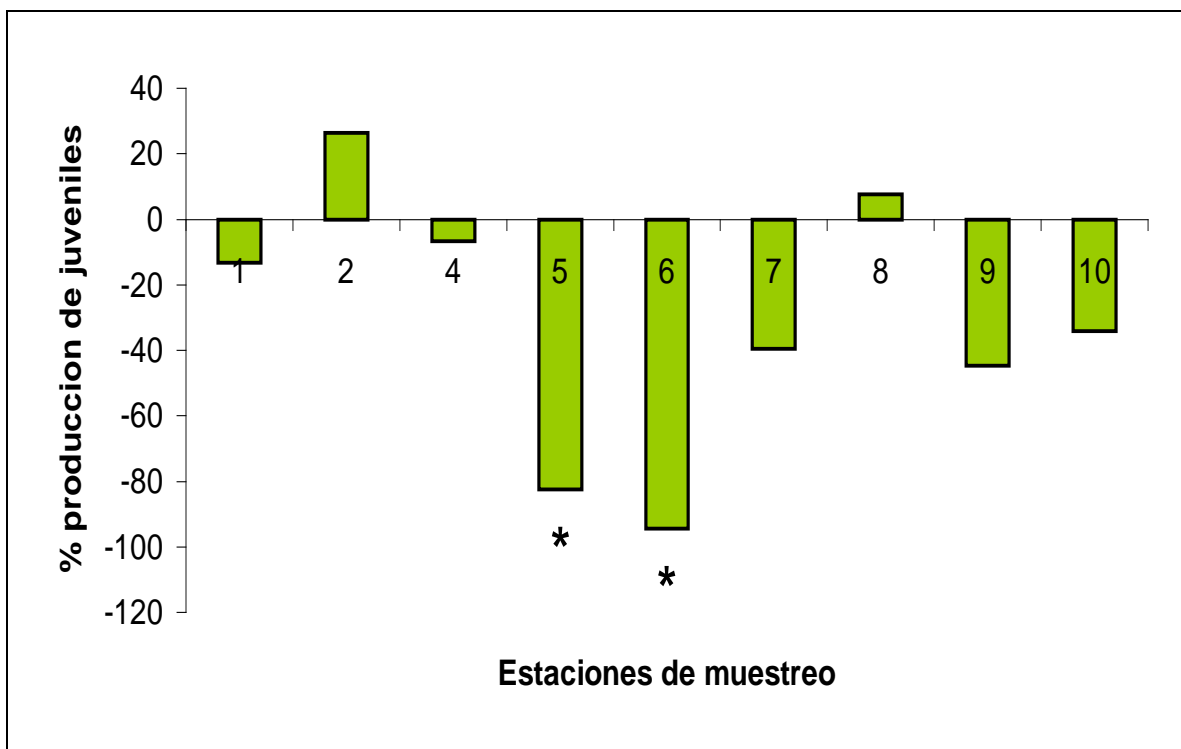
En la figura 14, se observa que las estaciones 4, 5, 6 y 7 mostraron una producción de cocoones con una disminución sobre un 30% con respecto al control, variando entre un 32% en la estación 7 hasta un 84% en la estación 6. En cinco estaciones se observó una estimulación, entre un 11% en la estación 9 y un 89% en la estación 10.



**Fig. 14:** Porcentaje de producción de cocoones a través de las estaciones de muestreo con respecto al control.

c) Producción de juveniles

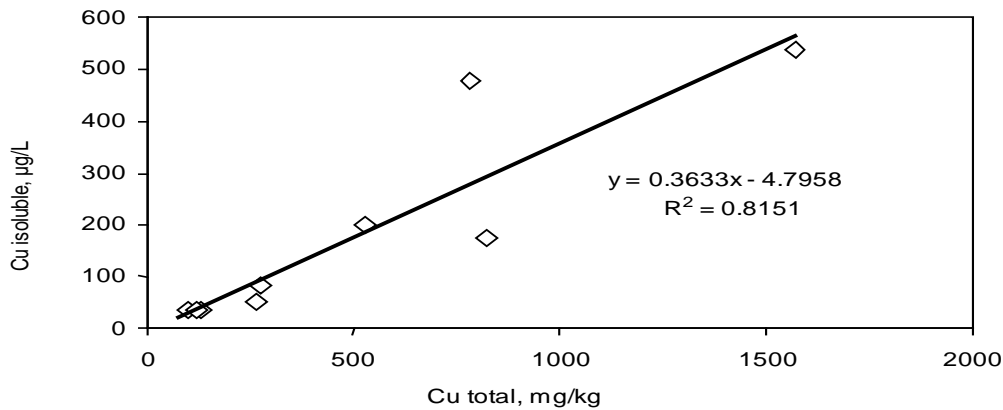
En la figura 15, se observa que siete estaciones de muestreo presentaron una disminución con respecto al control, variando entre un 7% en la estación 4 y una diferencia del 82% y 95% en las estaciones 5 y 6 respectivamente, siendo estas últimas significativamente diferentes, con respecto al control. Solo en dos estaciones se observó una estimulación, con un 8% en la estación 8 y un 26% en la estación 2.



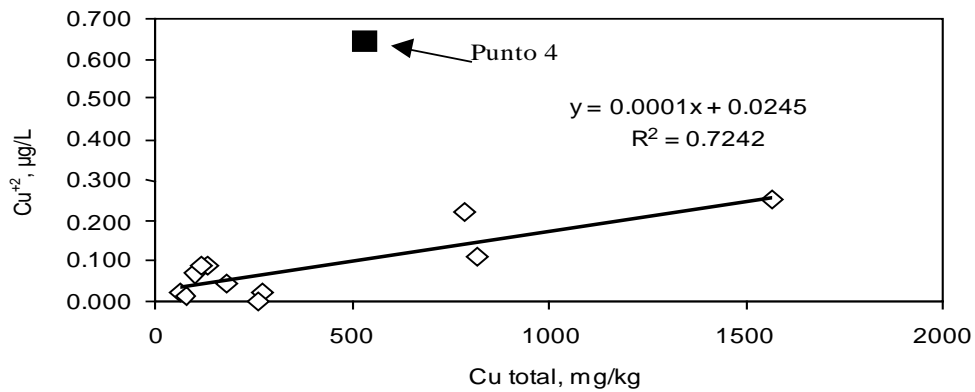
**Fig. 15:** Porcentaje de la producción de juveniles través de las estaciones de muestreo con respecto al control (\*significativamente diferente del control,  $P=0,05$ ).

### 7.3. Correlación entra variables físicas

En las figuras 16 y 17, se muestran las correlaciones entre cobre total y soluble, cobre total y  $\text{Cu}^{+2}$ . El cobre total presentó una correlación positiva significativa con el cobre soluble ( $R= 0,903$ ) y una correlación positiva con las concentraciones de cobre ion libre  $\text{Cu}^{+2}$  ( $R = 0,851$ ). El punto 4 fue excluido de la correlación.



**Fig. 16:** Concentración de Cu soluble en función del cobre total del suelo.



**Fig. 17:** Concentración de  $\text{Cu}^{2+}$  en función del cobre total en el suelo.

#### 7.4. Correlación entre fracciones de cobre y parámetros biológicos

En la tabla 8, se observa que al inicio del bioensayo, la mayoría de las fracciones de Cu presentaron una correlación inversa con los parámetros de toxicidad crónica, pero no significativa. Las correlaciones más altas se dieron entre las medidas de cobre soluble y la producción de cocoones ( $r = 0,663$ ,  $P = 0,039$ ). Al término del bioensayo, las correlaciones de cobre soluble y  $\text{Cu}^{2+}$  con los parámetros biológicos aumentaron, siendo más significativas entre las concentraciones de cobre soluble/producción de cocoones ( $r = 0,730$ ,  $p = 0,015$ ) y  $\text{Cu}^{2+}$ /producción de cocoones ( $r = 0,641$ ,  $P = 0,046$ ).

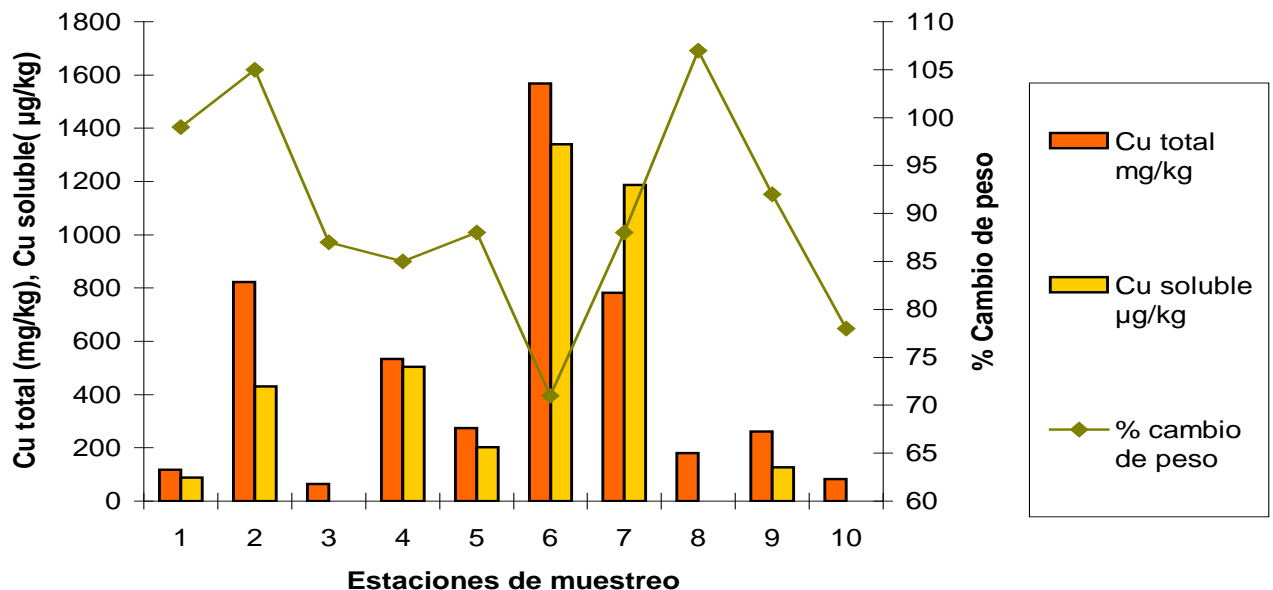
**Tabla 8.** Correlación de Pearson entre fracciones de cobre y parámetros biológicos, al inicio y al término del bioensayo.

Fracciones de Cu	Parámetro Biológico	Coefficiente correlación (inicio)	P	Coefficiente correlación (término)	P
Cu total (mg/kg)	Cambio de peso	-0,389	0.267	-	-
	Producción de cocoon	-0,606	0.060	-	-
	Producción de juveniles	-0,401	0.260	-	-
Cu soluble ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Cambio de peso	-0,463	0.167	-0,547	0.102
	Producción de cocoon	-0,663	0.039	-0,730	0.015
	Producción de juveniles	-0,464	0.198	-0,585	0.084
$\text{Cu}^{2+}$ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Cambio de peso	-0,279	0.435	-0,504	0.138
	Producción de cocoon	-0,494	0.151	-0,641	0.046
	Producción de juveniles	0,037	0.833	-0,257	0.545

## 7.5. Relación entre parámetros de toxicidad crónica y fracciones de cobre a través de las estaciones de muestreo

### 7.5.1. Relación entre cobre y cambio de peso

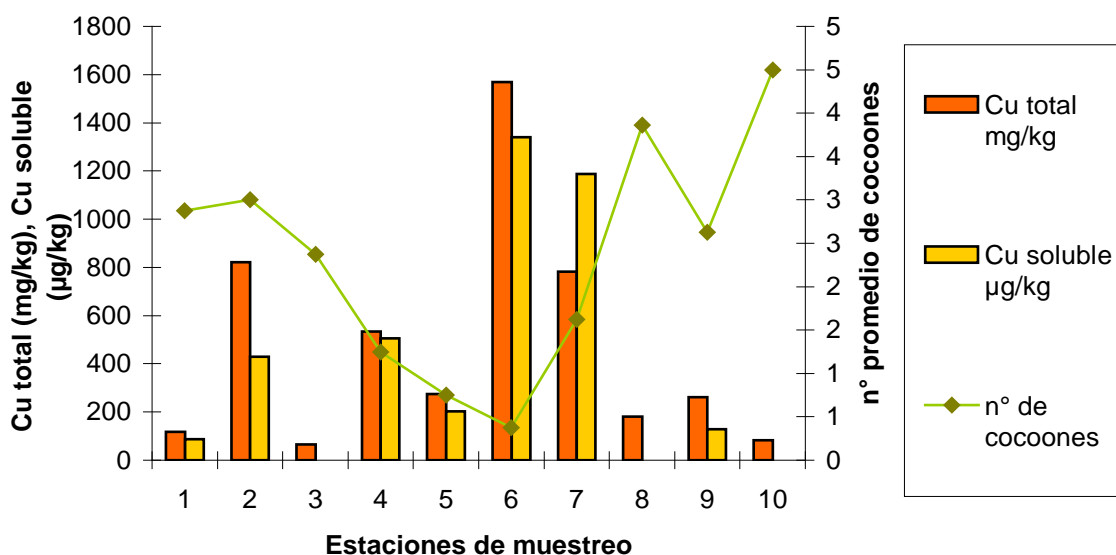
En la figura 18, se observa que las concentraciones de cobre a través de las estaciones no presentaron una clara relación con el cambio de peso promedio de las lombrices. Sí se observa, que la mayor reducción de peso, coincidió con la mayor concentración de cobre total y soluble, en la estación 6. También, se observa que las menores concentraciones de cobre soluble coinciden con una ganancia de peso, en la estación 8. Esta relación inversa no se observa en las estaciones 2 y 10.



**Fig. 18:** Relación entre Cu total y soluble con el cambio de peso a través de las estaciones de muestreo.

### 7.5.2. Relación entre cobre y producción de cocoones promedio

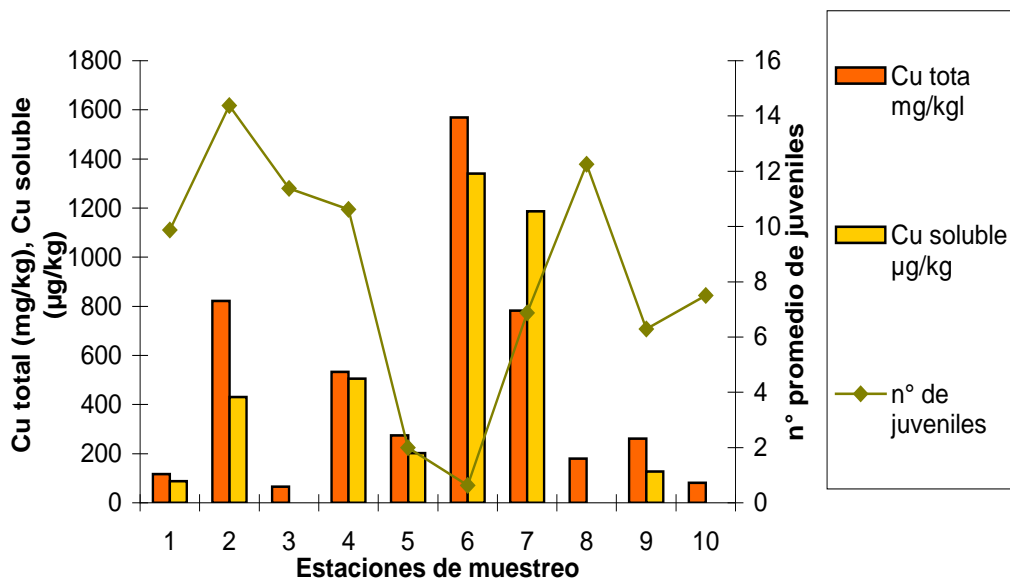
En la figura 19, se observa que las concentraciones de cobre (total y soluble) a través de las estaciones de muestreo, presentaron una tendencia a disminuir la producción promedio de cocoones en las estaciones con los mayores niveles de cobre, destacándose en un primer lugar la estación 6, la cual presentó los más altos niveles de cobre, que se relacionan con la menor producción de cocoones promedio, este efecto se produce de igual manera en las estaciones 4, 5 y 7, exceptuando la estación 2 en donde los niveles de cobre son altos y la producción mayor que el promedio. También se puede observar que se alcanza la mayor producción en las estaciones 8 y 10, que presentaron las menores concentraciones de cobre soluble.



**Fig. 19:** Relación entre Cu total y soluble con el número promedio de cocoones a través de las estaciones de muestreo.

### 7.5.3. Relación entre cobre y producción de juveniles promedio

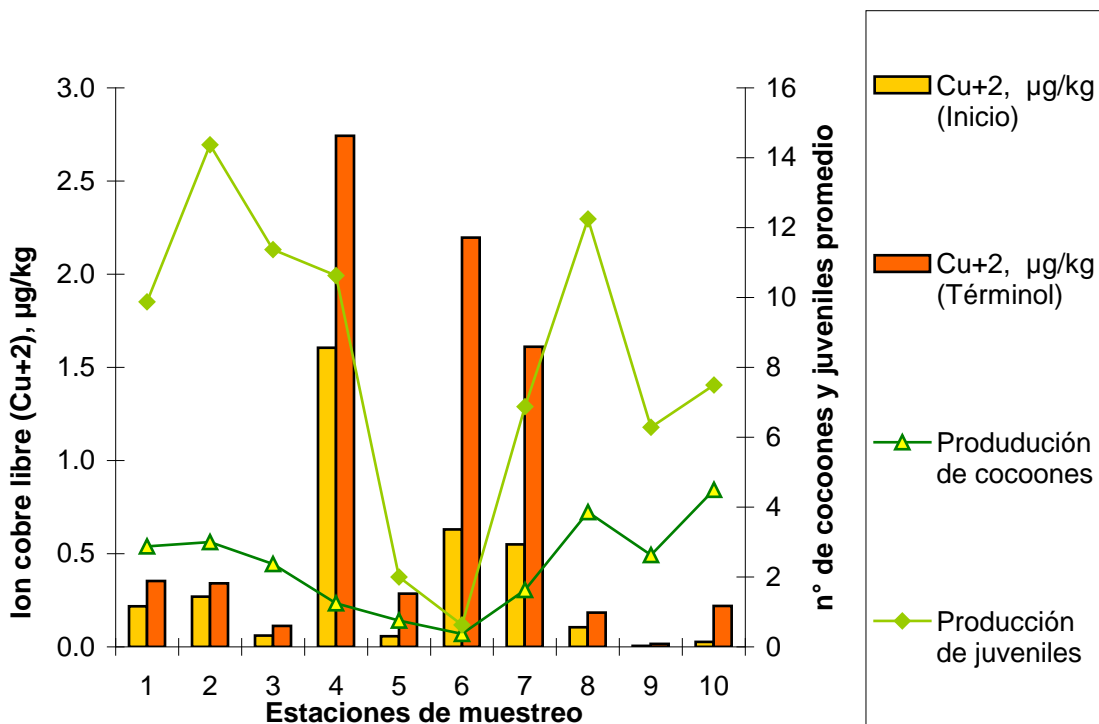
En la figura 20, en comparación con la figura anterior, no se observa claramente una relación clara entre las concentraciones y su efecto sobre la producción de juveniles. Sí, se observa que las mayores concentraciones de cobre soluble coincidieron con la menor producción de juveniles promedio en la estación 6. Las estaciones 3 y 8, mostraron las mayores producciones de juveniles a concentraciones menores 75  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de cobre soluble. Esta relación inversa no se observó en las estaciones 2, 4 y 7.



**Fig. 20:** Relación entre Cu total y soluble con número promedio de juveniles a través de las estaciones de muestreo.

#### 7.5.4. Relación entre ion $\text{Cu}^{+2}$ y producción de cocoones/juveniles promedio

En la figura 21, se observa que la variable que presentó una relación mas evidente, con las concentraciones de  $\text{Cu}^{+2}$  en las estaciones de muestreo fue, la producción de cocoones promedio, en contraste con la producción de juveniles promedio, en donde la primera variable (producción de cocoones) muestra una relación inversa, al disminuir la producción en las estaciones con los mayores niveles de  $\text{Cu}^{+2}$ , relación que no se observa con gran claridad con la producción de juveniles promedio.



**Fig. 21:** Relación entre  $\text{Cu}^{+2}$  (antes y después del bioensayo) y número de cocoones y juveniles promedio a través de las estaciones de muestreo.

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1. Características fisico-químicas de las estaciones de muestreo

De acuerdo con los resultados de las características fisicoquímicas de los suelos, el pH encontrado a través de las estaciones, mostraron niveles neutros y éstos fueron menores a los encontrados por De Gregori et al. [7], y menores a los descritos para regiones semiáridas, en donde el rango está entre un pH de 7 a 9 (Brady C., 1984 en [7]). Por otro lado, la materia orgánica encontrada en los suelos fue menor a un 6%, con un promedio de 4%, resultados que se asemejan a los encontrados por De Gregori et al. [7], clasificándolos como suelos minerales.

Las concentraciones de cobre total encontradas, a través de las estaciones de muestreo, presentaron los mayores niveles, en sectores con presencia de actividad minera. Este efecto se observó en las estaciones 2 (San Felipe) y 7 (Catemu), ambas ubicadas en sectores cercanos a tranques de relaves (Bellavista y Catemu respectivamente), donde las concentraciones encontradas, se deberían a la influencia del tranque en la depositación de elementos traza en el suelo, tanto por vía aérea, como por el transporte fluvial. El efecto anterior también se observó en la estación 6, la cual presentó la mayor concentración de cobre de todas las estaciones muestreo, niveles que superaron 24 veces a los encontrados en la estación control ubicada en San Felipe, y 12 veces a los niveles descritos por el "Informe País, 2002", medidos como cobre total para el valle del Aconcagua [6]. La estación 6 se ubicaba en las cercanías de la fundición Chagres, lo que podría explicar que el principal origen de los altos niveles de cobre en la muestra de suelo, se originarían por emisiones de material particulado desde la fundición, efecto que también se observa en la acumulación de cobre en áreas bajo la influencia de chimeneas industriales en Ventanas, fenómeno evidenciado por González et al. [41].

De Gregori et al. [7], encontró una concentración de 140 mg/kg de cobre total en la comuna de Catemu, valor que se vio superado 6 veces por el encontrado en la estación 7, ubicada en la misma comuna. Por otro lado, esta autora, encontró en

la comuna Casa Blanca (sector sin actividad minera) concentraciones de cobre, que comparadas con los máximos niveles encontrados en el presente estudio, se ven superadas 6 veces, resultado que evidencia la influencia de la actividad minera en los suelos de uso agrícolas estudiados en este trabajo.

Las concentraciones de Cu soluble y  $\text{Cu}^{+2}$ , medidas al inicio del bioensayo, presentaron una correlación con el Cu total encontrado en el suelo. También se determinó que el cobre libre representó solo una pequeña fracción (menor a 0,5%) del cobre soluble, esto sugiere, que prácticamente todo el Cu soluble estaba presente como complejos orgánicos.

El cambio presentado por las concentraciones de cobre soluble y ion cobre libre  $\text{Cu}^{+2}$ , al término del bioensayo, donde el cobre soluble disminuye y el  $\text{Cu}^{+2}$  aumenta, se podría haber producido por múltiples factores biótico y abióticos que podrían haber contribuido a cambiar las características del suelo, como la materia orgánica presente y el pH, afectando la disponibilidad del cobre.

## **8.2. Toxicidad aguda**

Las lombrices expuestas por un periodo de dos semanas a los suelos muestreados, no evidenciaron toxicidad aguda, a través de todas las estaciones de muestreo, lo que se debería a las bajas concentraciones de cobre biodisponibles, las cuales no fueron las necesarias para determinar un nivel de mortalidad durante este periodo. Spurgeon y Hopkin [27], observaron una mortalidad del 50% en *Eisenia fetida*, utilizando suelos recolectados en terreno, a concentraciones mayores a 2609 mg/kg de cobre total, valor que supera los niveles máximos encontrados en el presente estudio. Por otro lado, Lukkari et al. [42], encontró niveles de toxicidad aguda para *Eisenia fetida*, utilizando suelo artificial, con un  $\text{LC}_{50}$  en concentraciones de 249 mg/kg de cobre total y 137 mg/kg de cobre biodisponible (usando ácido acético como extractor), siendo esta última concentración, 100 veces superior a las máximas concentraciones de cobre biodisponible (como soluble), encontradas en el presente estudio, lo que explica la ausencia de toxicidad aguda en los suelos muestreados.

### 8.3. Toxicidad crónica

Los resultados de sobrevivencia fueron altos (>90%), en todas las estaciones de muestreo, lo que indica la ausencia de toxicidad significativa a las cuatro semanas de exposición, esto se debería, al igual que en el ensayo de toxicidad aguda, a que las concentraciones de cobre biodisponibles no fueron las suficientemente altas para provocar toxicidad crónica en este parámetro. En la estación 4, se observó el menor porcentaje de sobrevivencia de todas las estaciones, lo que podría explicarse a la relación con la mayor concentración de cobre biodisponible, como ion  $\text{Cu}^{+2}$ , causando un 7% de mortalidad en las lombrices.

La distribución de peso de las lombrices al inicio de los ensayos, fue homogénea, lo que disminuyó los errores para la realización de los bioensayos. La pérdida de peso promedio en la estación de control, fue de un 13%, valor aceptado por el IWEE II para la validación del test [28]. El crecimiento de las lombrices disminuyó en el 80% de las estaciones (incluyendo el control), durante las primera cuatro semanas. La mayor pérdida de peso en las lombrices, se presentó en las estaciones 6 y 10, donde el efecto producido en la primera estación, se podría explicar debido a la coincidencia de ésta, con la mayor concentración de cobre soluble. Sin embargo, la estación 10, al presentar una de las concentraciones más baja de cobre soluble, explicaría este efecto, a una mayor producción de cocoones, comportamiento que podría haber disminuido la energía disponible para el crecimiento. Diferentes estudios indican que la pérdida de peso se atribuye a la reducción del consumo al evitar el alimento contaminado [43]. Sin embargo, en el presente estudio se agregó alimento no contaminado para evitar complicaciones en los resultados, lo que indica que los resultados en el crecimiento se explican por los efectos del cobre sobre la fisiología de las lombrices expuestas a los suelos muestreados.

La producción de cocoones, se redujo en las estaciones con mayores niveles de cobre, observándose una reducción del 84% con respecto al control en la estación 6, a concentraciones de 1570 mg/kg de cobre total, valor superior al encontrado por Hopkin et al. [44], en donde se redujo severamente la producción a 1400 mg/kg de cobre.

Tal como se describe en estudios anteriores [36], los parámetros más sensibles en los bioensayos de toxicidad crónica, son los de producción de cocoones y juveniles. En este estudio se encontró una mayor sensibilidad en la producción de juveniles, reduciéndose significativamente con respecto al control, en un 82% a 278 µg/kg de cobre soluble, en cambio, los cocoones mostraron una reducción del 84% a niveles de 1040 µg/kg de cobre soluble. Este efecto se debería, a que la producción de cocoones medida en lombrices adultas, no es tan sensibles a elementos tóxicos, comparado con la toxicidad que se expresa en lombrices jóvenes, las cuales en este estudio se mostraron más afectadas, a menores concentraciones [29].

Las concentraciones de cobre total, determinadas al inicio del bioensayo, presentaron bajas correlaciones con los parámetros biológicos estudiados, ésto confirma la idea de que las mediciones de cobre total, no son adecuadas para medir los niveles de toxicidad en organismos del suelo, en comparación a las medidas de elementos en su forma biodisponible (soluble o como ion  $\text{Cu}^{+2}$ ) [21]. La correlación negativa más relevante (Tabla 8), se observó entre las concentraciones de cobre soluble y la producción de cocoones, lo que indicaría que el cobre biodisponible estaría influenciando la producción de cocoones adversamente, durante las primeras 4 semanas de exposición. Este efecto se puede explicar debido a que el cobre, después de ser absorbido, es eliminado por mecanismos de excreción, los cuales poseen costos energéticos en la mantención y reparación del sistema, el gasto extra implica una reducción en la energía disponible para el crecimiento y el desarrollo, causando además, efectos en la maduración sexual y la producción de cocoones [29].

El aumento de la disponibilidad del  $\text{Cu}^{+2}$  al término del bioensayo, produjo un aumento en la correlación entre las concentraciones de  $\text{Cu}^{+2}$  y la producción de cocoones, en comparación a la relación observada al inicio del test, sin embargo, el valor de ésta fue baja.

Las bajas correlaciones observadas entre las concentraciones de cobre y los parámetros de reproducción, se podrían explicar a la existencia de otros elementos en los suelos, como por ejemplo As y Hg, que podrían haber aumentado o disminuido los efectos tóxicos del cobre en el comportamiento de las lombrices. Para nemátodos del suelo, se ha encontrado que mezclas de Cu y Zn provocan efectos de interacción de antagonismo, cuando se expresan los metales en concentraciones totales, pero muestra interacciones de tipo aditivas, cuando se expresan en concentraciones extractables (Korthals, 1997 en [45]). Las bajas correlaciones encontradas se deberían también, a la baja distribución normal de las concentraciones, para el análisis estadístico de estas, requiriendo para estudios futuros mayor cantidad de puntos de muestreo para el estudio de la Cuenca.

Es necesario tomar en cuenta algunas observaciones, sobre la técnica de bioensayo de toxicidad crónica utilizada, que influyen en el comportamiento normal de las lombrices de tierra. Éstas, después de un periodo determinado inoculaban una cierta cantidad de cocoones y desarrollaban “nidos” al interior del suelo, los cuales poseían alimento recolectado por el progenitor, el cual serviría como sustento para el desarrollo de los juveniles nacidos. Al extraer después de las primeras 4 semanas las lombrices progenitoras, suspendiendo así la mantención de estos nidos, se podría ver afectada la sobrevivencia de los recién nacidos.

Se resalta la necesidad de desarrollar esta técnica, utilizando diferentes organismos que se desarrollan en el microcosmo del suelo, como también la utilización de organismos que pertenezcan a la fauna edáfica de nuestro país. También se recomienda ampliar el espectro de análisis de metales trazas, como zinc y arsénico, para observar la influencia de otros contaminantes emitidos por la actividad minera que afectan la calidad ecotoxicológica de los suelos.

## 9. CONCLUSIÓN

- Los resultados de este estudio muestran, que las concentraciones de cobre en diferentes suelos de la Cuenca del Aconcagua, reflejan la influencia de la actividad minera, tal como se observó en las estaciones cercanas a los tranques de relaves en San Felipe y Catemu, como también las estaciones cercanas a la fundición de Chagres.
- Las concentraciones de cobre total, no muestran una correlación significativa con los resultados del bioensayo, lo que corrobora la idea de que los niveles de cobre total, no son representativos de la toxicidad en los organismos del suelo.
- Las concentraciones de cobre en su forma biodisponible ( $\text{Cu}^{+2}$ ), no se encuentran en los niveles para determinar toxicidad aguda sobre *Eisenia fetida*.
- Las concentraciones de cobre en su forma biodisponible ( $\text{Cu}^{+2}$ ), muestran toxicidad crónica, observando una mayor relación con la producción de cocoones y juveniles, reflejada en una reducción en las estaciones con mayor cobre biodisponible, siendo la producción de juveniles, el parámetro más sensible a las concentraciones encontradas.
- Los suelos agrícolas estudiados cercanos a actividad minera presentaron una “calidad ecotoxicológica” adversa observándose efectos tóxicos crónicos sobre *Eisenia fetida*.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] CONAMA (1995). Perfil Ambiental de Chile. Estado de contaminación de los suelos en Chile. <http://lauca.usach.cl/ima/perfil.htm> (21/05/04).
- [2] COCHILCO.(2004). Normativa Ambiental del Sector Minero. [http://www.cochilco.cl/desarrollo/nacional/normativa\\_suelo.asp](http://www.cochilco.cl/desarrollo/nacional/normativa_suelo.asp). (21/05/04).
- [3] CONAMA. (2000). Política Ambiental de la Región de Valparaíso. [Documento Técnico].
- [4] Meza F., Giliberto R., Maldini F., Magri A., Alvarez-Arenas M., Garcia M., Valenzuela S. y Losarcos L. (1999). Cuentas Ambientales del Recurso agua en Chile. [Documento Técnico]. Facultad de Agronomía y Ciencias Forestales. Departamento de Recursos Naturales. Pontificia Universidad Católica de Chile en conjunto con las consultoras TAU Consultora Ambiental y ECONAT Consultores.
- [5] INE. (1997). VI Censo Nacional Agropecuario. Instituto Nacional de Estadística (INE). Santiago, Chile.
- [6] Universidad de Chile. (2002). Informe País: Estado del Medio Ambiente en Chile. (1ra ed). Editorial Lom. Santiago, Chile. Págs : 219-220.
- [7] [De Gregori I., Fuentes E., Rojas M., Pinochet H. y Potin-Gautier M. \(2003\). Monitoring of copper, arsenic and antimony levels in agricultural soils impacted and non-impacted by mining activities, from three regions in Chile. J. Environ. Monitt., 5: 287-295.](#)
- [8] [Kabata-Pendias A. \(2004\). Soil-plant transfer of trace elements- An enviromental issue. Geoderma, 122: 143-149.](#)
- [9] Arancibia V. (2002). Ubicación geográfica, construcción, abandono y forestación de los tranques de relave de la V Region. Memoria para optar al grado de licenciado en Geografía y al título de Geógrafo. Universidad Católica de Valparaíso. Págs: 8-33.

- [10] [Brigden K., Labunska I., Stringer R., Johnston P., Santillo D. y Ashton J. 2000. Identification of organic pollutants and heavy metal contaminants in samples collected from the environs of an industrial complex, in the Quilicura district of Santiago, Chile. Departamento de Ciencias Biologicas. Univercidad de Exeter, UK.](#)
- [11] [Inaba S. y Takenaka C. \(2005\). Effects of dissolved organic matter on toxicity and bioavailability of copper for lettuce sprouts. Environment International, 31: 603-608.](#)
- [12] Adriano D. (2001). Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risk of Metals. (2nd ed). Springer-Verlag, New York.
- [13] [Eijsackers H., Beneke P., Maboeta M., Louw J. y Reinecke A. \(2005\). The implications of copper fungicide usage in vineyards for earthworm activity and resulting sustainable soil quality. Ecotoxicology and Environmental Safety \(artículo por publicar\).](#)
- [14] [Van Zwieten L., Rust J., Kingston T., Merrington G. y Morris S. Influence of copper fungicide residues on occurrence of earthworms in avocado orchard soils \(2004\). Science of Total Environment, 329: 29-41.](#)
- [15] [Ginocchio R., Rodriguez P., Badilla-Ohlbaum R., Allen H. y Lagos G. \(2002\). Effects of soil copper content and pH on copper uptake of selected vegetables grown under controlled conditions. Environmental Toxicology and Chemistry, 21:1736-1744.](#)
- [16] FAO. (2002). Enfoques: La vida en los suelos y su función en la agricultura sostenible. <http://www.fao.org/ag/esp/revista/0011sp1.htm> (09/03/05).
- [17] Honorato R. (2000). Manual de Edafología. (1era ed). Ediciones U.C.Ch. Págs: 177-181.
- [18] Kula H. y Larink O. (1997). Development and standardisation of test methods for the prediction of sublethal effects of chemicals on earthworms. Soil biology and Biochemistry, 29: 635-63.

- [19] Paradise C. (2001). Una prueba ecotoxicológica estandarizada de suelo usando gusanos rojos (*Eisenia foetida*). El Profesor Americano De la Biología, 63: 662-668.
- [20] [FAO. Bennack D., Brown G., Bunning S. y Hungria M. 2002. Soil Biodiversity Management for Sustainable and Productive Agriculture: Lessons from Case Studies. Págs: 10-12.](#)
- [21] [Lanno R., Wells J., Conder J., Bradham K. y Basta N. \(2003\). The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. Ecotoxicology and Environmental Safety, 57: 39-47.](#)
- [22] Gibbs M., Wicker L. y Stewart A. (1996). A method for assessing sublethal effects of contaminants in soil to the earthworm, *Eisenia foetida*. Environmental toxicology and Chemistry, 15: 360-368.
- [23] Moore J., De Ruiter P., Coleman D. y Freckman D. (1996). Microcosms and soil ecology. Critical linkages between field studies and modeling food webs. Ecology, 77: 694-705.
- [24] Verhoef H. (1996). The role of soil microcosms in the study of ecosystem processes. Ecology, 77: 685-690
- [25] Van Gestel C., Van Dis W., Van Breemen E. y Sparenbug P. (1989). Development of a standardized reproduction toxicity test whit the earthworm species *Eisenia andrei* using copper, pentachlorophenol and 2,4-dichloroaniline. Ecotoxicol. Environ Safety, 18: 305-12.
- [26] OECD. (2000). Draft Guideline for the Testing of Chemicals. Earthworm Reproduction Test (*Eisenia foetida/andrei*).
- [27] Spurgeon D. y Hopkin S. (1995). Extrapolation of laboratory based OECD earthworm test to metal-contaminated field sites. Ecotoxicology, 4: 190-205.
- [28] Spurgeon D., M. Weeks J. y Van Gestel C. (2003). A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology. Pedobiologia, 47: \*\*-\*\*.
- [29] [Spurgeon D. y Hopking S. \(1996\). Effects of metal-contaminated soils on the growth, sexual development, and early cocoon production of the earthworm \*Eisenia fetida\*, whit particular refernce to zinc. Ecotoxicology and Enviromental Safety, 35: 86-95.](#)

- [30] [Domínguez J., Velando A. y Ferreiro A. \(2005\). Are \*Eisenia fetida\* \(Savigny, 1826\) and \*Eisenia andrei\* Bouche' \(1972\) \(Oligochaeta, Lumbricidae\) different biological species? \*Pedobiología\*, 49: 81-87.](#)
- [31] Bravo A., Peirano P. (1989). Estudio exploratorio descriptivo de los factores que influyen en el desarrollo y madurez sexual de *Eisenia foetida* (Savigny 1826) (Annelida, Oligochaeta). Seminario de Tesis para optar al Título de profesor de Estado en Biología y Ciencias. Universidad de Playa Ancha. Valparaíso. Págs: 8-33.
- [32] Edwards C. (1998). The use of earthworms in environmental management. *Soil Biology and Biochemistry*, 24: 1683-1689.
- [33] Janssen R., Posthuma L., Baerselman R., Den Hollander H., Van Veen R. P., Peijnenburg J. (1997). Equilibrium partitioning of heavy metal in Dutch field soils. 2. Prediction of metal accumulation in earthworms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16: 2479-2488.
- [34] [Spurgeon D. y Hopkin S. \(1999\). Comparisons of metal accumulation and excretion kinetics in earthworms \(\*Eisenia fetida\*\) exposed to contaminated field and laboratory soils. \*Applied Soil Ecology\*, 11: 227-243.](#)
- [35] [Badilla-Ohlbaum R., Ginocchio R., Rodríguez P., Cespedes A., González S., Allen H. y Lagos G. \(2001\). Relationship between soil copper content and copper content of selected crop plants in central Chile. \*Environmental Toxicology and Chemistry\*, 20: 2749-2757.](#)
- [36] [Spurgeon D., Hopkin S. y Jones D. \(1994\). Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm \*Eisenia fetida\* \(Sagviny\): Assessing the environmental impact of point source metal contamination in terrestrial ecosystems. \*Environmental Pollution\*, 84: 123-130.](#)
- [37] Van der Watt H. (1966). Improved tables and simplified procedure for soil particle size analysis by the hydrometer method. *South African Journal of Agricultural Sciences*. 9: 911-916.
- [38] Sadzawka A., Grez R, Mora, Saavedra N., Carrasco M. y Rojas C. (2000). Métodos de análisis recomendados para los suelos Chilenos. Comisión de Normalización y Acreditación, Sociedad Chilena de la Ciencia del suelo,

Santiago,

[http://www.inia.cl/platina/pubbycom/charlas/docs/asadzawka\\_suelos.pdf](http://www.inia.cl/platina/pubbycom/charlas/docs/asadzawka_suelos.pdf)

- [39] Maxwell J. (1968). Rock and Mineral Analysis. (1era ed). Editorial Pergamon, Oxford, New York.
- [40] OECD. (1984). Guidelines for the testing of chemicals. No. 207 Earthworm acute toxicity tests, Paris, Francia.
- [41] Gonzalez S., Ite R. (1992). Acumulación metálica en suelos del área bajo influencia de las chimeneas industriales de Ventanas (Provincia Valparaíso, V Región). Agricultura Técnica, 50: 241-219.
- [42] [Lukkari T., Autsinki M., Vaisanen A. y Haimi J. \(2005\). Toxicity of copper and zinc assessed with three different earthworm tests. Applied Soil Ecology. \(artículo por publicar\).](#)
- [43] Laskowski R. y Hopking S. (1996). Effects of Zn, Cu, Pb and Cd on fitness in snails (*Helix aspersa*). Ecotoxicol Environ Safety, 34: 59-69
- [44] [Hopking S., Scott-Fordsmand J. y Weeks J. \(2000\). Importance of the contamination history for understanding toxicity of copper to earthworm \*Eisenia foetida\* \(oligochaeta: annelida\), using neutral-red retention assay. Environmental Toxicology and Chemistry, 19: 1774-1780.](#)
- [45] Weltje L. (1998). Mixture toxicity and tissue interactions of Cd, Cu, Pb and Zn in earthworms (Oligochaeta) in laboratory and field soil: a critical evaluation of data. Chemosphere, 12: 2643-2660.