



UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
INGENIERÍA AMBIENTAL

**TOXICIDAD DE LAS AGUAS DEL RÍO ACONCAGUA: BIOENSAYOS CON LA  
MICROALGA *SELENASTRUM CAPRICORNUTUM* Y SU RELACIÓN CON LA  
CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL

**FERNANDA LORETO ARÁNGUIZ MERCADO**

PROFESOR GUÍA: DR. HERNÁN GAETE O.

VALPARAISO, NOVIEMBRE DE 2006

A mis padres,  
con todo mi amor.

## **Agradecimientos**

Este trabajo de tesis se realizó gracias al Proyecto "Toxicidad y especiación de metales pesados en aguas superficiales afectadas por la actividad minera en la cuenca del río Aconcagua" (DIPUV-REG 06-2003).

Doy mis agradecimientos a Marco Fuenzalida por su ayuda en la facilitación de material de laboratorio y a Gabriela Cienfuegos por su ayuda en la comprensión de la metodología. También mis sinceros agradecimientos al Doctor Hernán Gaete, profesor guía de este trabajo de tesis, por su dedicación, tiempo y confianza entregada.

A mi hermosa familia y a Daniel gracias por su paciencia, amor y apoyo incondicional.

# 1. ÍNDICE

	<b>Página</b>
1. Índice.....	4
2. Resumen.....	5
3. Marco teórico.....	6
3.1. <i>Antecedentes generales</i> .....	6
3.2. <i>Ecotoxicología y bioensayos</i> .....	9
3.3. <i>Estudios en el país</i> .....	13
3.4. <i>La cuenca del río Aconcagua</i> .....	16
4. Problema.....	20
5. Objetivos.....	21
6. Metodología.....	22
6.1. <i>Muestreo</i> .....	22
6.2. <i>Análisis químico</i> .....	28
6.3. <i>Bioensayos</i> .....	28
7. Resultados y discusiones.....	31
8. Conclusiones.....	49
9. Referencias.....	50
10. Anexos.....	55

## 2. RESUMEN

En la cuenca del río Aconcagua se realiza una intensa actividad minera. Esto ha provocado un incremento en las concentraciones de metales pesados, lo que puede representar un riesgo para las comunidades acuáticas que habitan este ecosistema. Es por ello que en esta investigación se planteó como objetivo general, estudiar espacial y temporalmente la calidad de las aguas del río Aconcagua afectadas por la actividad minera. Con este fin se determinó la toxicidad de las aguas superficiales del río Aconcagua a través de bioensayos de inhibición del crecimiento de la microalga de agua dulce *Selenastrum capricornutum* y se correlacionó su tasa de crecimiento con las concentraciones de metales pesados. Para ello se tomaron muestras en diferentes estaciones a lo largo de su eje longitudinal en varios períodos (noviembre 2004, mayo, julio y septiembre del 2005) en siete puntos de muestreo en la parte alta del río Aconcagua. Se midieron los siguientes parámetros *in situ*: pH, conductividad, oxígeno disuelto, temperatura y sólidos disueltos totales. Además, en el laboratorio se determinó nitratos, fósforo, cobre total, hierro, molibdeno, zinc, y cobre disuelto. Los resultados muestran que las aguas cercanas a la descarga de un efluente minero presentaron toxicidad durante todos los períodos de estudio, los niveles de concentración de molibdeno y cobre estuvieron sobre la norma de calidad de aguas. Las correlaciones entre las concentraciones de los metales y la tasa de crecimiento de *S. capricornutum* en los diferentes períodos de estudio fueron variables, se destaca las correlaciones inversa y significativa con el cobre en algunos períodos. Estos resultados plantean la importancia de incorporar el uso de bioensayos de toxicidad para determinar la calidad de las aguas superficiales afectadas por la descarga de contaminantes químicos.

### **3. MARCO TEÓRICO**

#### **3.1. Antecedentes generales**

El agua es el componente químico más abundante en la biosfera y quizá también el más importante. Casi toda la vida en la Tierra, incluso la humana, utiliza agua como medio fundamental para el funcionamiento metabólico (Henry y Heinke, 1999).

El agua dulce es un recurso renovable limitado. La creciente demanda de agua limpia y segura por parte del público, la industria y la agricultura ha hecho tomar conciencia de que las prácticas del pasado, que suponían una provisión infinita de agua a bajo costo, ya no pueden continuar. Este recurso se contamina cuando la descarga de residuos perjudica la calidad del agua o perturba el equilibrio ecológico natural. Los contaminantes que causan problemas comprenden organismos causantes de enfermedades (patógenos), materia orgánica, sólidos, nutrientes, sustancias tóxicas, color, espuma, calor y materiales radiactivos (Henry y Heinke, 1999), los cuales provienen tanto de fuentes puntuales (i.e. efluentes industriales y domésticos), como difusas (i.e. agrícolas, forestales) (Gaete *et al.*, 1999).

En los ecosistemas acuáticos cuando la entrada antropogénica de algunas sustancias tóxicas, como los metales pesados, sobrepasa las entradas naturales se puede afectar adversamente a los organismos que habitan estos ecosistemas, ya que algunos de estos elementos presentan toxicidad aguda a relativamente bajas concentraciones (Koukal *et al.*, 2003), pudiendo afectar a los productores primarios, los cuales son claves en su estructura y funcionamiento, por lo que cualquier efecto negativo sobre ellos puede afectar los niveles tróficos superiores (Walsh *et al.*, 1987; Li *et al.*, 2005).

Uno de los metales pesados que se destaca por sus efectos tóxicos sobre los organismos acuáticos es el cobre (Ma *et al.*, 2003). Este metal es ubicuo en el medio ambiente. Su presencia en sistemas acuáticos proviene de una variedad de descargas de origen natural y antropogénico. Las fuentes naturales de cobre son múltiples y este elemento parece ser relativamente abundante (aproximadamente 60 mg/Kg) en la corteza terrestre como óxido de cobre, sulfato de cobre y otros minerales. Las fuentes antropogénicas de contaminación medioambiental por cobre incluyen a la minería, fundiciones, y una variedad de productos basados en cobre utilizados en construcción, equipamientos electrónicos y en otras industrias (Cyrino *et al.*, 2004).

El cobre es un elemento esencial, requerido por todas las plantas y animales, incluyendo la vida acuática ya que forma parte de una variedad de enzimas que juegan un rol importante en procesos fisiológicos, así como en algunas proteínas estructurales. La contaminación por cobre ha alcanzado gran atención ya que es uno de los más importantes y potencialmente tóxicos de los contaminantes metálicos (Meador *et al.*, 1998; Bossuyt y Janssen, 2004; Cyrino *et al.*, 2004).

Los metales tóxicos entran a las células a través de sistemas de transporte de metales nutrientes. Estos sistemas consisten en proteínas localizadas en la membrana externa de la célula, conteniendo grupos funcionales (i.e. carboxílico, amino) que interaccionan con los iones de los metales y permiten su entrada al interior de la célula. Los efectos tóxicos a menudo ocurren cuando los metales tóxicos desplazan a los nutrientes de sus sitios metabólicos (Koukal *et al.*, 2003). Por ejemplo, cuando los organismos se exponen excesivamente al cobre, los mecanismos de control homeostáticos llegan a ser agobiados, y surge la toxicidad debido a los efectos adversos del cobre en la estructura y la función de macromoléculas tales como ADN y proteínas (Cyrino *et al.*, 2004).

La exposición de un organismo a un metal se refiere al contacto con el metal. Un importante componente de la exposición de un metal es su biodisponibilidad -

fracción del metal total que esta disponible para ejercer acción y efecto en el organismo receptor (Baker *et al.*, 2003).

Conocer las formas químicas de los metales es esencial para entender su interacción con los organismos vivos, pues la especiación del metal determina su movilidad y biodisponibilidad (Guéguen *et al.*, 2003).

La especiación química de los metales traza en las aguas naturales tiene importantes implicaciones para su comportamiento biogeoquímico. Los elementos traza están presentes en las aguas naturales como especies disueltas y asociadas con coloides y partículas (Guéguen *et al.*, 2003; Baker *et al.*, 2003).

Se ha demostrado que contenidos similares de metal en pruebas biológicas pueden revelar una amplia gama de efectos tóxicos. En lo que respecta a su reactividad, el metal se puede asociar a las partículas, coloides y especies disueltas. Hay acuerdo entre la mayoría de los investigadores que la biodisponibilidad y la toxicidad de los metales traza está más bien correlacionada directamente a las concentraciones de iones libres del metal que a las concentraciones totales del metal. Existe evidencia que la concentración total del metal no es un buen pronosticador de la biodisponibilidad, toxicidad y movilidad del metal. En las aguas naturales, solamente una fracción pequeña del metal disuelto puede estar presente como cationes hidratados libres debido a la presencia de una gran variedad de ligandos orgánicos e inorgánicos (Guéguen *et al.*, 2003; Koukal *et al.*, 2003).

Combinaciones específicas de parámetros químicos, biológicos y medioambientales determinan la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de los metales. El cobre es, por ejemplo, menos disponible para la recepción por organismos acuáticos que otros metales (Peijnenburg y Jager, 2003), y es más tóxico para las plantas que para los animales (Lewis, 1995).



La toxicidad del cobre se relaciona principalmente con iones libres y ésta sensibilidad varía entre organismos. Los iones de cobre libre, en el nivel de cobre encontrado en aguas naturales, son muy tóxicos para las algas. Sin embargo, las formas predominantes de cobre no son los iones de cobre libre, sino que son los complejos orgánicos y que éstos no son biodisponibles para estos organismos (Ma *et al.*, 2003; Yan y Pan, 2002).

En las aguas dulces, el pH y la complejación orgánica son importantes para determinar la especiación, biodisponibilidad y toxicidad del cobre. La variabilidad en la actividad del ión hidrogeno es un factor que altera la especiación y consecuentemente la concentración de las formas toxicas del cobre. Varios autores han demostrado que componentes orgánicos pueden reducir la toxicidad del cobre y de otros metales a los organismos (Meador *et al.*, 1998).

### **3.2. Ecotoxicología y bioensayos**

La Ecotoxicología es la ciencia que se preocupa de proteger los sistemas ecológicos de efectos adversos producidos por sustancias químicas, lo que procura anticiparse para cuando estas sustancias entran en el ambiente y qué efectos ecológicos tienen cuando consiguen hacerlo (Calow, 1993).

Existen dos principales formas de medir los efectos ecológicos de las sustancias toxicas. Primero, anticiparse a como los tóxicos pueden probablemente afectar los sistemas ecológicos, mediante pruebas que son aplicadas a sustancias nuevas antes de ser utilizadas, y también a tóxicos existentes para los cuales los efectos reales en el campo pueden todavía ser desconocidos. Estas pruebas de anticipación se realizan mayormente en el laboratorio con apropiado diseño y control. Segundo, para determinar qué cambios ocurren en sistemas ecológicos bajo la influencia de sustancias tóxicas ya utilizadas. Estas pruebas generalmente se realizan con efluentes o aguas receptoras. Algunos de estos procedimientos (para ambos tipos de pruebas) están estrictamente definidos en requisitos legales;

otros son utilizados rutinariamente pero no están prescritos legalmente (Calow, 1993).

Los bioensayos son herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología. Estas pruebas de toxicidad permiten realizar mediciones experimentales del efecto de agentes químicos o físicos en sistemas biológicos, estableciendo relaciones concentración-respuesta bajo condiciones controladas en terreno o en laboratorio (Silva *et al.*, 2003).

Los análisis químicos y físicos son una fuerte herramienta para evaluar la calidad de las aguas, identificando y detectando los componentes individuales responsables del debilitamiento de la calidad del agua. En contraste, los bioensayos pueden ser utilizados para evaluar la toxicidad de una muestra en su totalidad. Los resultados de los bioensayos pueden ser usados para identificar mas rápida y confiablemente las área mas tóxicas, de esta forma ayudan a seleccionar sitios para una mejor evaluación, incluyendo la dirección de los análisis químicos y físicos (Okamura *et al.*, 2002).

Un buen organismo bioindicador manifiesta sensibilidad al contaminante que se quiere estimar, y su mayor o menor presencia en el hábitat provee una indicación a veces muy precisa del nivel de contaminación (Calow, 1993).

Los organismos mas utilizados en los bioensayos son productores y consumidores primarios, porque integran los primeros niveles tróficos del ecosistema. Los microorganismos son importantes miembros de muchos ecosistemas, son de fácil cultivo, proveen resultados rápidamente y pueden ser mantenidos bajo condiciones controladas y conocidas y cuidadosamente elegidos pueden actuar como organismos sustitutos o dominantes que representan a los organismos más altos de los ecosistemas, corresponden a un nivel trófico bajo por lo que pueden servir como indicadores tempranos de potenciales efectos (Mayfield, 1993).

Cualquier alteración en los productores primarios puede afectar directa o indirectamente a todos los organismos consumidores. La disminución de la densidad de las algas y otras especies productoras primarias de la cadena alimenticia afecta el ecosistema acuático ya que reduce su biodiversidad y, en consecuencia, su producción primaria (Li *et al.*, 2005).

Las algas de agua dulce y plantas vasculares (macrófitas) han sido utilizadas por muchos años por los ecologistas para monitorear las características limnológicas básicas y para determinar el impacto de la contaminación en charcas, lagos y ríos (Lewis, 1993).

La sensibilidad de varias plantas y animales frente a sustancias tóxicas ha sido comparada en varias ocasiones y se encontró que es específica para cada especie y sustancia tóxica. Resultados de varios estudios indican que la sensibilidad de especies de animales y plantas es generalmente impredecible (Lewis, 1995). Por esta razón, el desarrollo de una base de datos comprensiva de las reacciones de los microorganismos a los productos químicos tóxicos conducirá a una mejor comprensión de sus efectos sobre los ecosistemas.

Se ha observado un fuerte efecto inhibitorio de efluentes sobre algas nativas al aplicar bioensayos de toxicidad (Asselborn y Domitrovic, 2000).

Se ha estudiado la adaptación al cobre en cultivos de laboratorio de *Selenastrum capricornutum*. La toxicidad del cobre fue reducida después de veinte generaciones de exposición al cobre (Klerks *et al.*, 1987).

Un mecanismo de la tolerancia de las algas es la exclusión fisiológica de iones del metal debido a reducción de permeabilidad de la membrana de la célula. También puede ocurrir la inmovilización interna del metal por la formación de cuerpos de cobre (Yan y Pan, 2002). Algunas especies tienen la capacidad de disminuir la

toxicidad de metales pesados absorbiendo los tóxicos a su pared celular, es el caso de *Scenedesmus subspicatus* (Ma *et al.*, 2003).

Varios factores pueden ser responsables de esta variabilidad observada en los datos de toxicidad en algas. Factores abióticos, como la composición del cultivo y el medio de prueba pueden afectar significativamente la tolerancia de los organismos. En pruebas de toxicidad con metales, la concentración de quelantes como EDTA debe ser considerada, ya que éstos pueden disminuir la toxicidad del metal disminuyendo la actividad del ión libre de metal. Otros factores abióticos, incluyendo la densidad de inoculación algal o la elección de la variable de la respuesta, por ejemplo la biomasa o tasa de crecimiento, también pueden influir en los resultados de la prueba. Los factores bióticos que pueden afectar la tolerancia de las algas al metal son la aclimatación/adaptación a las concentraciones del metal en el medio de cultivo (Muysen y Janssen, 2001).

Un agente quelante frecuentemente utilizado en la formulación de medios de mantención y de prueba para microalgas es el ácido etilendiaminotetraacético sal disódica dihidrato (EDTA); éste produce complejos, relativamente no tóxicos para las células, con muchos metales. Entre los cationes típicamente quelados por el EDTA están: Aluminio, Bario, Cadmio, Cobalto, Cobre, Fierro, Plomo, Manganeso (+2), Níquel, Estroncio y Zinc. Aquellos metales con los cuales el EDTA forma complejos relativamente fuertes, frecuentemente reducen su toxicidad (Rodríguez y Rivera, 1995). Por lo tanto, es importante considerar la presencia de éste o algún otro agente quelante dentro de la formulación de los medios de prueba que son utilizados para los bioensayos de toxicidad, puesto que la química del medio puede alterar la nutrición metálica o la magnitud de la toxicidad generada por el material de prueba (Rodríguez y Rivera, 1995).

La evaluación de la toxicidad de aguas contaminadas mediante bioensayos con algas es una de las herramientas estandarizadas en la determinación del impacto medioambiental (Guéguen *et al.*, 2003).

El *Algal Assay Procedure (AAP) Bottle Test* proporcionó la primera dirección oficial para estudiar el potencial inhibitorio y estimulante de los productos químicos que se incorporaban al ambiente acuático. Esta prueba fue diseñada inicialmente para la evaluación de adiciones nutrientes, específicamente nitrógeno y fósforo, y tasas de eutrofización. Luego este procedimiento fue adaptado para el uso en pruebas de toxicidad, y la prueba resultante con el alga verde de agua dulce, *Selenastrum capricornutum*, ha servido para evaluar la toxicidad de productos químicos y de aguas residuales (Ward *et al.*, 2002).

En Chile, el Instituto Nacional de Normalización (INN) ha normado el protocolo de bioensayos con *Selenastrum capricornutum* en la Norma Chilena Oficial 2706 del año 2002 (NCh2706/2002). En la elaboración de esta norma se tomó en consideración la Norma Internacional ISO 8692: 1989 *Water Quality- Fresh water algal growth inhibition test with Scenedesmus subspicatus and Selenastrum capricornutum*, siendo no equivalente a la misma al tener desviaciones mayores consistentes en no considerar el uso de *Scenedesmus subspicatus* porque no ha sido validado en nuestro país, e incluir el selenio como elemento traza, según referencia de *U.S. EPA 1994 Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Water to Freshwater Organism* y también considerar procedimiento descrito en el Manual de Métodos para el Bioensayo de Crecimiento con Microalgas (INN, 2002).

La importancia de estos controles por bioensayos se basa en que permiten predecir en el laboratorio y en terreno el efecto que la sustancia ensayada o efluente puede tener sobre la biota, y en definitiva sobre la calidad de agua de un recurso hídrico.

### **3.3. Estudios en el país**

La situación en Chile comienza a partir de 1968, año en que se inician monitoreos rutinarios en algunos ríos del país, destinados a conocer la calidad del recurso,

principalmente para su uso en riego. A partir del estudio “Análisis crítico de la red de calidad de aguas” del año 1982 se establecen claramente los puntos de muestreo, frecuencia y parámetros que serán estudiados (Universidad de Chile, 2002).

En 1989 y 1991 fueron realizados dos estudios exploratorios para la DGA<sup>1</sup>, que concluyen en un diagnóstico, básicamente de carácter cualitativo, sobre el nivel y tipo de contaminación esperada por cuenca o segmentos de cuenca para todo el país. Para la cuenca del río Aconcagua en Chacabucquito los resultados, a esa fecha, arrojaron un grado de contaminación medio y potencial alto y contaminación a esa fecha y potencial, de tipo química, física y bacteriológica (Universidad de Chile, 2002).

En Chile las descargas industriales más relevantes en el deterioro de la calidad del medio acuático provienen de la minería del cobre, fábricas de celulosa y papel y las industrias pesqueras. Los aportes más significativos de la carga orgánica producto de los residuos industriales líquidos los entregan las cuencas de los ríos Maipo, Aconcagua, Adalén y Biobío, sin considerar sus caudales de dilución (Universidad de Chile, 2002).

No cabe duda que la actividad minera es una de las más importantes en el desarrollo económico y social del país; sin embargo, las técnicas de extracción y procesamiento de los minerales generan una gran cantidad de residuos cuyo tratamiento y/o disposición es un problema no menor (Universidad de Chile, 2002).

En lo que respecta a la normativa chilena sobre la calidad de las aguas continentales superficiales, se encuentra la Norma Chilena NCh1333/78: Requisitos de Calidad del Agua para diferentes usos, modificada en 1987, la cual se aplica a las aguas destinadas al consumo humano, bebida de animales, riego, recreación y estética y vida acuática.

---

<sup>1</sup> Dirección General de Aguas

La mayoría de los trabajos realizados con especies del fitoplancton se han centrado en el estudio de los efectos que causan sobre las microalgas los metales traza provenientes desde efluentes mineros e industriales, como el Zn, Pb y Cu y algunos elementos traza no esenciales, particularmente Cd y Hg, dada la amplia ocurrencia de niveles peligrosamente altos de estos metales en el medio ambiente (Rodríguez y Rivera, 1995).

En catástrofes sobre estudios de contaminantes marinos causados por la actividad minera en Chile, se detecta un claro predominio de los productos provenientes de los procesos y efluentes de la minería del cobre. La extracción de esta gran riqueza minera produce modificaciones en el ecosistema por la remoción de materiales, uso de aguas superficiales o subterráneas y descargas de desechos sólidos y líquidos. Estos desechos por lo general son vertidos a aguas superficiales o al mar donde producen diversos efectos en el medio receptor y en la flora y fauna. Los contaminantes involucrados en las descargas varían dependiendo de los procesos; por ejemplo, en el proceso de extracción de minerales oxidados denominado "lixiviación", se producen relaves con un gran contenido de sulfatos provenientes del ácido sulfúrico y de elevadas concentraciones de metales pesados como: Cu, Fe, Mn, Zn, Pb, Mo y Cd (Rodríguez y Rivera, 1995).

Existen pocos antecedentes en Chile acerca de estudios de toxicidad realizados con especies del fitoplancton, más bien los esfuerzos han sido dirigidos hacia la investigación de los efectos de sustancias tóxicas, especialmente metales traza, sobre organismos tales como peces y crustáceos. Ante la creciente demanda de información acerca de los efectos deletéreos de ciertas sustancias consideradas peligrosas para el medio ambiente y la salud humana, generada por las medidas exigidas por la legislación actual, la búsqueda de especies potencialmente bioindicadoras del fitoplancton es una buena opción dadas las ventajas que presentan algunas microalgas para este tipo de análisis (Rodríguez y Rivera, 1995).

### **3.4. La cuenca del río Aconcagua**

La zona de la cuenca del Aconcagua comprende el valle y la cuenca del río Aconcagua – el más importante de la región -, el cual concentra aproximadamente el 70% de los recursos hídricos de la zona (CONAMA<sup>2</sup>, 2004).

La hoya del río Aconcagua se desarrolla en el extremo sur de la zona de los Valles Transversales o Semiárida, en la V Región de Valparaíso. Nace en la cordillera de Los Andes y desemboca al mar, en el océano Pacífico, en la bahía de Concón, en la zona central de Chile. Se encuentra ubicada entre los paralelos 32° 20' y 33° 07' de la latitud sur y entre los meridianos 71° 31' y 70° 00' de la longitud oeste. Tiene una extensión aproximada de 7.337 Km<sup>2</sup>. Geográficamente, esta cuenca exorreica se encuentra completamente dentro de la Quinta Región político – administrativa (DGA, 2004b).

El río Aconcagua, se forma en la unión de los ríos Juncal y Blanco, con el gran aporte andino proveniente del río Colorado que recibe por su lado norte a poco más de 13 kms aguas abajo. Estos tres ríos provenientes de la alta cordillera de Los Andes con alturas entre 5.400 y 7.000 m.s.n.m<sup>3</sup>., permiten una glaciación importante y una nivación estacional considerable, lo que contribuye a fijar las características hidrológicas del río Aconcagua (DGA, 2004a).

En su nacimiento después de la junta de los ríos Juncal y Blanco (1.420 m.s.n.m.) ya tiene las características de un río importante con un promedio anual natural de 20.5 m<sup>3</sup>/s. Entra al valle central en el sector del puente Las Vizcachas, con un promedio anual natural de 33.0 m<sup>3</sup>/s. Al iniciar su recorrido ya en el valle central recibe por su ribera norte el río Putaendo y el estero Quilpue o San Francisco. En su recorrido entre San Felipe y poco más abajo de la junta con el río Putaendo, existen importantes recuperaciones del río Aconcagua. En el curso medio del río

---

<sup>2</sup> Comisión Nacional del Medio Ambiente

<sup>3</sup> metros sobre el nivel del mar



Aconcagua recibe aportes de varios esteros de marcado régimen pluvial, por el lado norte, los esteros Catemu y El Melón, mientras que por la ribera sur llegan los afluentes Lo Campo, Los Loros o Las vegas. En el curso inferior, luego de recibir los aportes del estero Rautén, su principal tributario corresponde al estero Limache, una cuenca regulada por el embalse Los Aromos. Finalmente, y luego de un recorrido de aproximadamente 190 kilómetros desde su nacimiento, en las juntas de los ríos Juncal y Blanco, desemboca al Océano Pacífico, en Concón, al norte de la ciudad de Viña del Mar (DGA, 2004a).

Su régimen hidrológico es de alimentación mixta, o nivo-pluvial. En su zona alta y media el río Aconcagua es de régimen marcadamente nival, presentando un gran aumento de caudal en los meses de primavera producto de los deshielos cordilleranos. En la zona baja, el río Aconcagua posee un régimen pluvial, por lo cual presenta crecidas asociadas directamente con las precipitaciones (DGA, 2004a).

De acuerdo a la DGA, el caudal del río fluctúa dependiendo de las variaciones climáticas, tanto precipitaciones como deshielos, y también se aprecian diferencias a lo largo de su curso. El caudal máximo se observa a la altura del estero San Francisco y es de  $0,938 \text{ m}^3/\text{s}$ . El caudal mínimo se encuentra en la estación Catemu, con un promedio anual de  $0,004 \text{ m}^3/\text{s}$ .

La zona del Valle del Aconcagua cuenta con un clima, disponibilidad de agua y calidad de suelos, que determinan excelentes condiciones para el desarrollo de la agricultura, la industria y para el asentamiento de la población (CONAMA, 2004).

Las principales actividades económicas en la cuenca del río Aconcagua son la agricultura, la minería y la industria. La actividad agrícola se desarrolla principalmente en los alrededores de las ciudades de San Felipe y Los Andes donde los cultivos principales son las siembras de cereales y chacras (DGA, 2004b).

La superficie destinada en la cuenca a la minería industrial, comprende una superficie de 1.037 Há equivalente al 0,1% el total de la superficie de la cuenca, donde la minería metálica más importante de la cuenca corresponde a la explotación de cobre fino en sectores de Los Andes y Catemu. La explotación de estos minerales, se lleva a cabo por la minera Andina, División de Codelco Chile (cobre y molibdeno) y la Compañía Minera Disputada de Las Condes Ltda. con las faenas mineras: Fundición Chagres, Planta El Soldado, Planta El Cobre y Mina Los Bronces, actualmente en operación y dedicadas a la explotación del mineral de cobre.

La División Andina de Codelco, cuenta con el mayor yacimiento de la región ubicado en la provincia de Los Andes, donde se localizan las minas Andina y Sur-Sur. La producción minera, se procesa en Ventanas. Durante el año 2000, Andina alcanzó las 257.970 toneladas de cobre fino y la producción de molibdeno fue de 3.592 toneladas (DGA, 2004b).

Nueve son las plantas de procesamiento de mineral de importancia, donde las mayores demandantes de agua son las plantas de Saladillo, El Cobre, El Melón y la Fundición Chagres.

Además de la minería del cobre, la actividad industrial sobresale por su diversidad, ya que cuenta con actividades tan diversas como industrias de alimentos, conserveras, cemento y minería. La industria está representada también, por la fabricación de productos químicos industriales y frigoríficos relacionados con la conservación de todo tipo de carnes (DGA, 2004b).

Los usos extractivos en la cuenca como de captación de agua potable, riego, generación de energía eléctrica, uso industrial y uso en la minería demandan grandes cantidades de agua. Prácticamente la totalidad de los establecimientos industriales presentes en la cuenca descargan directamente al río Aconcagua, exceptuando sólo algunas industrias (DGA, 2004b).

La demanda de agua tanto para riego, como para la industria, minería y la población, supera los 500 millones de m<sup>3</sup>/año, concentrándose principalmente en la zona media e inferior del valle. Los recursos disponibles para satisfacer esta demanda de agua provienen tanto de los cauces superficiales como de aguas subterráneas (CONAMA, 2004). En total las industrias mineras presentes en la cuenca utilizan 39.248.280 m<sup>3</sup>/año de agua en sus procesos productivos (DGA, 2004b).

Según la CONAMA la zona del Valle del Aconcagua es una de las áreas más intervenidas de la región, con un desarrollo industrial significativo y centros urbanos en crecimiento. Lo anterior ha provocado un deterioro en el medio ambiente dentro de lo cual destacan la contaminación hídrica del río Aconcagua y sus afluentes, la pérdida de ecosistemas, deterioro y pérdida de suelos productivos y contaminación atmosférica. Uno de los principales problemas ambientales de la quinta región es la contaminación en el río Aconcagua, dado que este constituye la principal fuente de recurso hídrico en la región. Esta situación se torna más compleja, teniendo en cuenta las actividades económicas y la población que depende de este curso de agua, además del riesgo para la salud humana.

Los contaminantes provienen de la actividad doméstica, agrícola e industrial que se desarrolla en el entorno. La descarga de riles, incrementa la contaminación industrial y minera que afecta directamente al río Aconcagua (CONAMA, 2004).

De acuerdo con lo señalado por CONAMA regional, el principal problema de contaminantes hídrica lo constituyen los vertidos de aguas servidas domésticas e industriales sin tratamiento previo, a ríos y mar.

#### 4. PROBLEMA

En la parte alta del río Aconcagua se desarrolla la actividad minera, la cual demanda grandes volúmenes de agua en los distintos procesos que se llevan a cabo. Esta actividad podría estar generando impactos sobre los ecosistemas acuáticos al descargar sus residuos líquidos al río.

La normativa encargada de evaluar este impacto se basa en los factores físicos y químicos que afectan la calidad de las aguas por lo cual no es conocido el efecto de ella sobre los organismos vivos.

En este proyecto se estudió, espacial y temporalmente, la calidad de las aguas del río Aconcagua a través de bioensayos de inhibición del crecimiento con la microalga *Selenastrum capricornutum* guiados por análisis físicos y químicos, en el sector alto del río Aconcagua donde se desarrolla la actividad minera.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. Objetivo general**

- Estudiar espacial y temporalmente la calidad de las aguas del río Aconcagua afectadas por la actividad minera.

### **5.2. Objetivos específicos**

- Determinar, a través de bioensayos con la microalga *Selenastrum capricornutum*, la toxicidad de las aguas del área seleccionada para el estudio.
- Caracterizar física y químicamente las aguas de la parte alta del río Aconcagua afectadas por la actividad minera.
- Correlacionar las medidas de las concentraciones de metales con los resultados de los bioensayos de toxicidad.
- Comparar la respuesta periódica y estacional de los organismos vivos en estudio.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1. Muestreo

Las muestras de agua para análisis fueron tomadas en recipientes plásticos en siete puntos de muestreo a lo largo del río Aconcagua en noviembre de 2004, mayo, julio y septiembre de 2005, de acuerdo a la norma NCh411/6.Of98, Calidad del agua – Muestreo (INN, 1998) (Figura 1-9). Las muestras fueron transportadas refrigeradas (4°C) a la Universidad de Valparaíso para su posterior análisis químico y realización del bioensayo de toxicidad. En la Tabla 1 se muestra la ubicación de cada una de las estaciones.

Tabla 1. Localización de puntos de muestreo en el río Aconcagua.

	Estación	Coordenadas	Altura [m]
1	Río Juncal	S 32° 54' 07.3" W 70° 14' 20.5"	1667
2	Río Blanco en Piscicultura	S 32° 55' 58.1" W 70° 16' 50.4"	1573
3	Río Blanco aguas abajo descarga planta Molibdeno	S 32° 55' 30.7" W 70° 17' 17.8"	1507
4	Confluencia ríos Blanco y Juncal	S 32° 54' 35.1" W 70° 18' 6.2"	1400
5	Aguas abajo confluencia con el Río Colorado	S 32° 51' 51.8" W 70° 24' 58.9"	1066
6	Los Andes	S 32° 49' 29.3" W 70° 35' 32.6"	806
7	Estero Catemu	S 32° 46' 46.1" W 70° 58' 32.5"	408

La determinación de pH, conductividad, temperatura y sólidos disueltos totales (SDT) se realizó *in situ* con un equipo multiparámetro Hanna HI 98130, y la determinación de las variables oxígeno disuelto y porcentaje de saturación de oxígeno se realizó con un equipo LABCOR Consort C534. Los niveles de nitrato

(NO<sub>3</sub>-N) y fósforo total se determinaron a través de colorimetría con un equipo Orbeco – Hellige 975 MP.

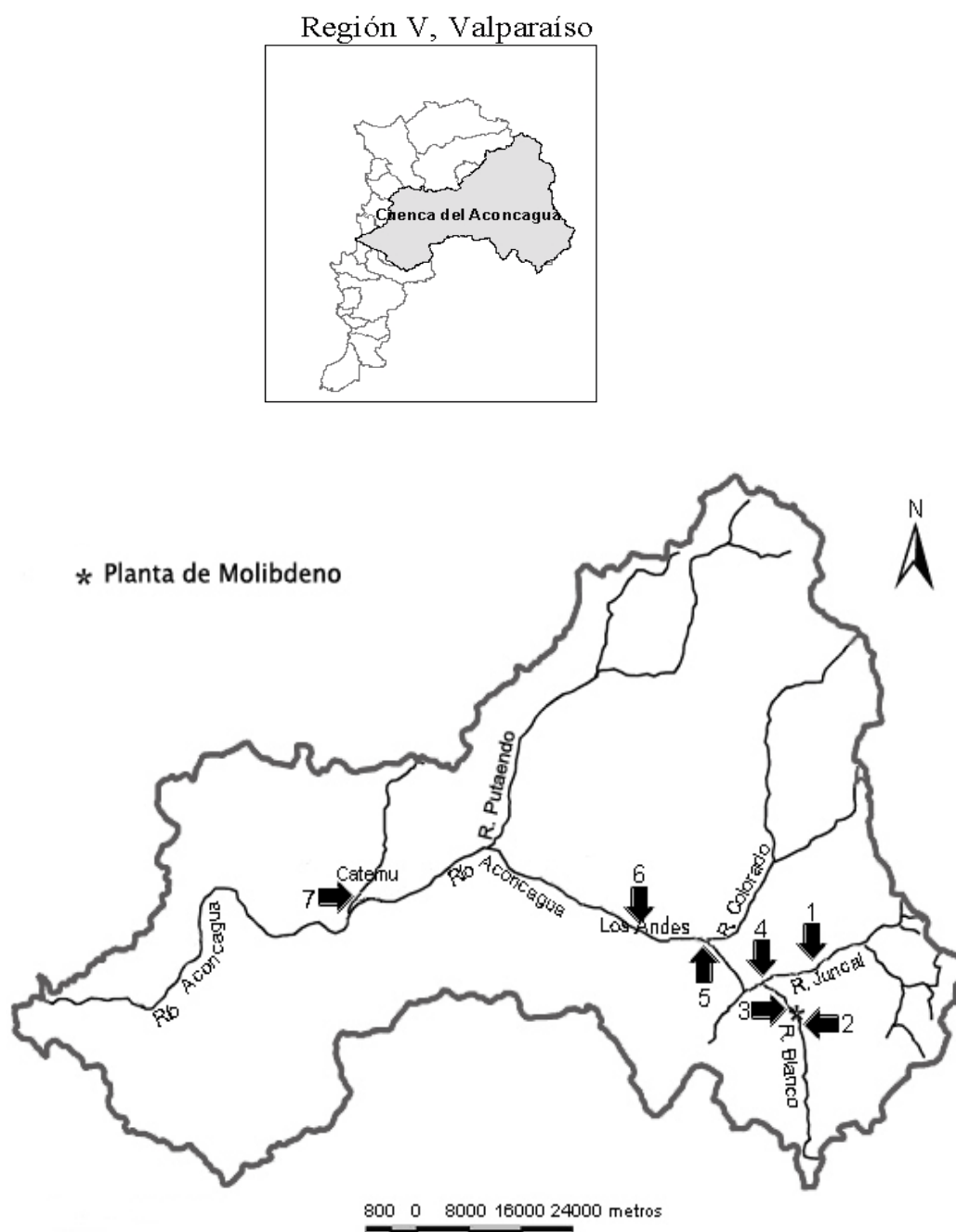


Figura 1. Ubicación de los puntos de muestreo en la zona de estudio (río Aconcagua)



Figura 2. Estación 1.



Figura 3. Estación 2.





Figura 4. Estación 3.



Figura 5. Descarga de RILes de la Planta de Molibdeno ubicada aguas arriba de la estación 3.



Figura 6. Estación 4.



Figura 7. Estación 5.



Figura 8. Estación 6.



Figura 9. Estación 7.

## **6.2. Análisis químico**

Los análisis químicos de los metales cobre (disuelto y total), molibdeno total, zinc total, hierro total y dureza ( $\text{CaCO}_2$ ) se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica en horno de grafito, para determinar la porción disuelta del cobre las muestras fueron filtradas con filtro de membrana de  $0,45 \mu\text{m}$  (Bossuyt y Janssen, 2004; Kramer *et al.*, 2004). Estos análisis se realizaron en el Laboratorio de Toxicología Humana y Ambiental de la Universidad de Playa Ancha y en el Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso.

## **6.3. Bioensayos**

Como organismo de prueba, se utilizó la microalga unicelular de agua dulce *Selenastrum capricornutum*, perteneciente al orden Chlorococcales clase Chlorophyceae, división Chlorophyta. La cepa fue adquirida en el Laboratorio de Ficología de la Universidad de Concepción. Los bioensayos fueron realizados de acuerdo a la norma NCh2709/Of2002 (INN, 2002).

Previo a cada bioensayo 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 de río con un mismo volumen de *Selenastrum capricornutum* 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 de río, 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

$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , a una temperatura de  $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y con agitación manual dos veces al día.

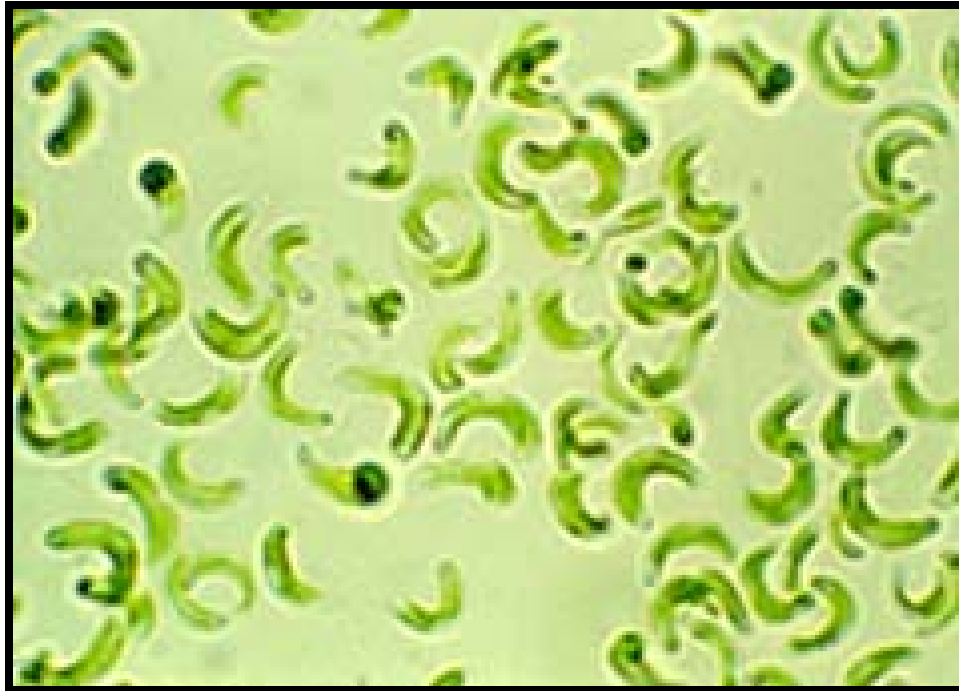


Figura 10. *Selenastrum capricornutum*, (Fuente: [www.shonan-inet.or.jp/~gef20/gef/chousa.htm](http://www.shonan-inet.or.jp/~gef20/gef/chousa.htm)).

La densidad celular ( $N$ ) se determinó cada 24 horas por conteo directo en microscopio utilizando cámara de Neubauer de línea brillante durante 96 horas y se determinó la tasa de crecimiento  $k$  en número de duplicaciones celulares por día (duplic/día) a partir de

$$k = 3,322 \frac{\log N_n - \log N_0}{t_n}$$

Donde  $N_n$  = densidad celular al final del bioensayo;

$N_0$  = densidad celular inicial nominal;

$t_n$  = 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

$$I_{ki} = \frac{k_c - k_i}{k_c} \times 100$$

Donde  $I_{ki}$ : porcentaje de inhibición de la tasa de crecimiento para la concentración  $i$ ;

$k_i$ : tasa de crecimiento para la concentración  $i$ ;

$k_c$ : tasa de crecimiento promedio para el control.

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 ello se utilizó el programa Systat.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los cuatro periodos de estudio el menor pH se determinó en la estación 3, siendo en mayo el más bajo con pH 7,2 (Figura 11a). Los niveles determinados fueron levemente alcalinos en todas las estaciones durante todos los períodos de estudio situándose en el rango establecido por la NCh1333/Of78 (INN, 1987) para aguas destinadas a riego. Estos niveles son similares a los determinados en la zona de estudio por la Dirección General de Aguas (DGA) el año 2004 (DGA, 2004b).

Similar pH se determinó en estudios realizados en el norte de Chile en el río Elqui (IV Región), y más al sur (VI Región) en el río Cachapoal, en los cuales se estudió el efecto de las explotaciones mineras sobre la calidad de sus aguas. En ambos estudios se determinaron los pH más bajos aguas abajo de efluentes mineros y niveles mas altos en aguas que no reciben directamente las descargas mineras (Guevara *et al.*, 2006; Richtera *et al.*, 2004), sin embargo, en el río Elqui se determinaron niveles mucho más bajos en comparación al presente estudio, lo cual puede deberse a diferencias en la actividad productiva de las empresas mineras, así como en las diferencias de caudal de los dos ríos, ya que los ríos mas caudalosos y rápidos tienen una capacidad de dilución mayor.

En noviembre, mayo y septiembre los niveles más altos de conductividad se determinaron en la estación 3 (Figura 11b), lo que no ocurrió en julio, siendo el nivel más alto el determinado en la estación 7. A diferencia de la estación 3 las otras estaciones no experimentaron mayores variaciones durante el estudio, pero se puede observar una pequeña disminución en los niveles de conductividad en noviembre, favorecida por el aumento del caudal del río en esa época del año. El elevado nivel de conductividad en la estación 3 se puede deber a la proximidad de esta estación con el efluente minero (planta de molibdeno). En tanto que, la disminución observada en la estación 3 en julio, en comparación a los otros meses

se podría deber a que durante ese muestreo se observó una notoria disminución de la descarga de dicho efluente.

Los niveles determinados en la estación 3 en noviembre y mayo corresponden según la NCh1333/Of78 (INN, 1987) a “aguas que pueden tener efectos adversos en muchos cultivos y necesita de métodos de manejo cuidadosos”, mientras que en septiembre correspondió a “aguas que puede tener efectos perjudiciales en cultivos sensibles”. Los niveles de conductividad determinados en la estación 3 en el presente estudio son más elevados a los determinados en otros estudios en el mismo sector (DGA, 2004b).

Niveles aún más elevados se determinaron en el estudio de Guevara (2006) en las aguas cercanas al distrito minero de El Indio, esta diferencia con el presente estudio puede deberse a diferencias en el proceso productivo y en los tratamientos de los residuos líquidos de las empresas mineras y a que ambos ríos presentan diferentes caudales durante el año. En dicho estudio también se determinó que la conductividad eléctrica varía en forma inversa al caudal debido al efecto de dilución producto del aumento de caudal causado por el derretimiento de la nieve en primavera, apareciendo como la causa más probable de su disminución entre octubre y febrero (Guevara *et al.*, 2006).

Con respecto a los sólidos disueltos totales en noviembre, mayo y septiembre se determinaron las concentraciones más altas en la estación 3, siendo más elevadas en mayo (Figura 11c), en julio, la mayor concentración se determinó en la estación 7. La disminución observada en la estación 3 en julio, en comparación a los otros meses se debió a la notoria disminución de la descarga del efluente minero cercano a esta estación. Similares niveles a los determinados en el presente estudio se determinaron en mediciones anteriores realizadas en el río Aconcagua, entre septiembre de 1998 y julio de 1999 (SAG, 2001).



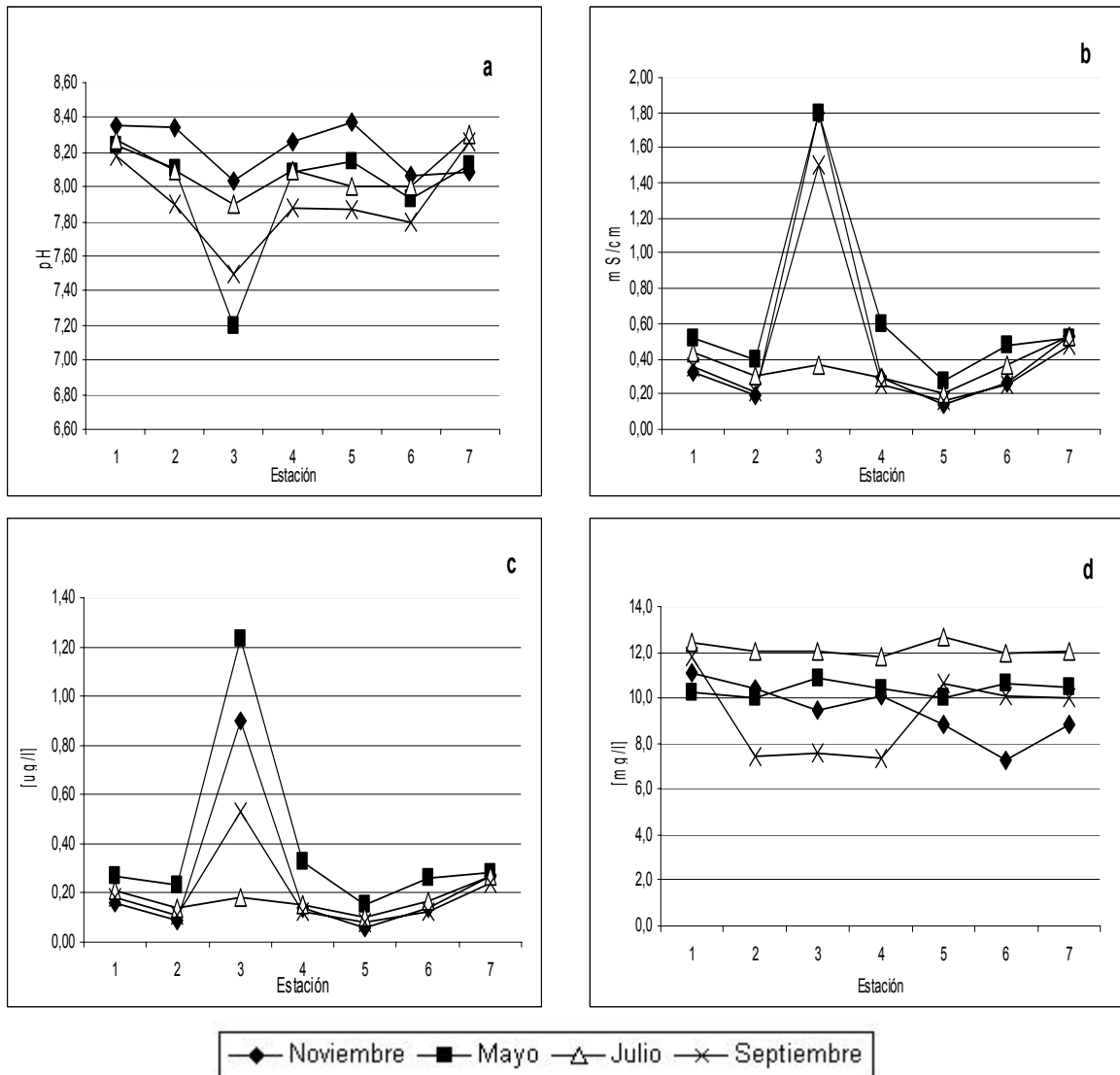


Figura 11. Variación temporal y espacial de los parámetros físico-químicos durante los periodos de estudio: pH (a), conductividad (b), sólidos disueltos totales (c), oxígeno disuelto (d).

Las concentraciones más altas de oxígeno disuelto (OD) se determinaron en julio (Figura 11d) siendo muy similares en todas las estaciones, mientras que las concentraciones más bajas se determinaron en las estaciones 2, 3 y 4 durante el mes de septiembre. Los niveles mínimos determinados en este estudio son más bajos a los encontrados en periodos anteriores (DGA, 2004b). Cabe destacar que los niveles de oxígeno disuelto en todas las estaciones estuvieron sobre la

concentración mínima de 5 mg/L que establece la normativa chilena para la protección de la vida acuática (INN, 1987). En general, la zona de estudio corresponde a ritrones, lo que favorece la aireación de las aguas y también su menor temperatura en la zona cordillerana.

La temperatura tuvo un comportamiento similar durante todo el estudio, siendo aguas arriba (estación 1) donde se encontraron las temperaturas más bajas y en la estación 7 las temperaturas más altas, excepto en septiembre, donde la temperatura en dicha estación es notoriamente más baja que la registrada en los otros muestreos (Figura 12a).

En cuanto a la dureza, durante todos los periodos de estudio se encontraron los niveles más bajos en la estación 5, correspondiendo, según la clasificación de Romero (1999), a aguas blandas o moderadamente duras, y los más altos en la estación 7, correspondiendo a aguas duras o muy duras (Figura 12b). En general, durante todos los periodos, los niveles se encuentran dentro de la NCh1333/Of78 que establece como mínimo una dureza de 20 mg/L de  $\text{CaCO}_3$  para aguas destinadas a la vida acuática (INN, 1987).

No se encontró una tendencia espacial ni temporal en las concentraciones de fósforo, mientras que los niveles de nitrato son relativamente bajos en la mayoría de las estaciones, excepto en la estación 7, observándose esta tendencia en todos los períodos de estudio (Figuras 12c y 12d). En la estación 7 se observó importante cantidad de vegetación (Figura 9), lo que estaría indicando un proceso de eutrofización. Este aumento del nitrógeno podría provenir del uso intensivo de fertilizantes en las actividades agrícolas que allí se desarrollan. A excepción de la estación 7, los niveles de nitrato fueron menores a los determinados en años anteriores en el mismo sector (Universidad de Chile, 2002).

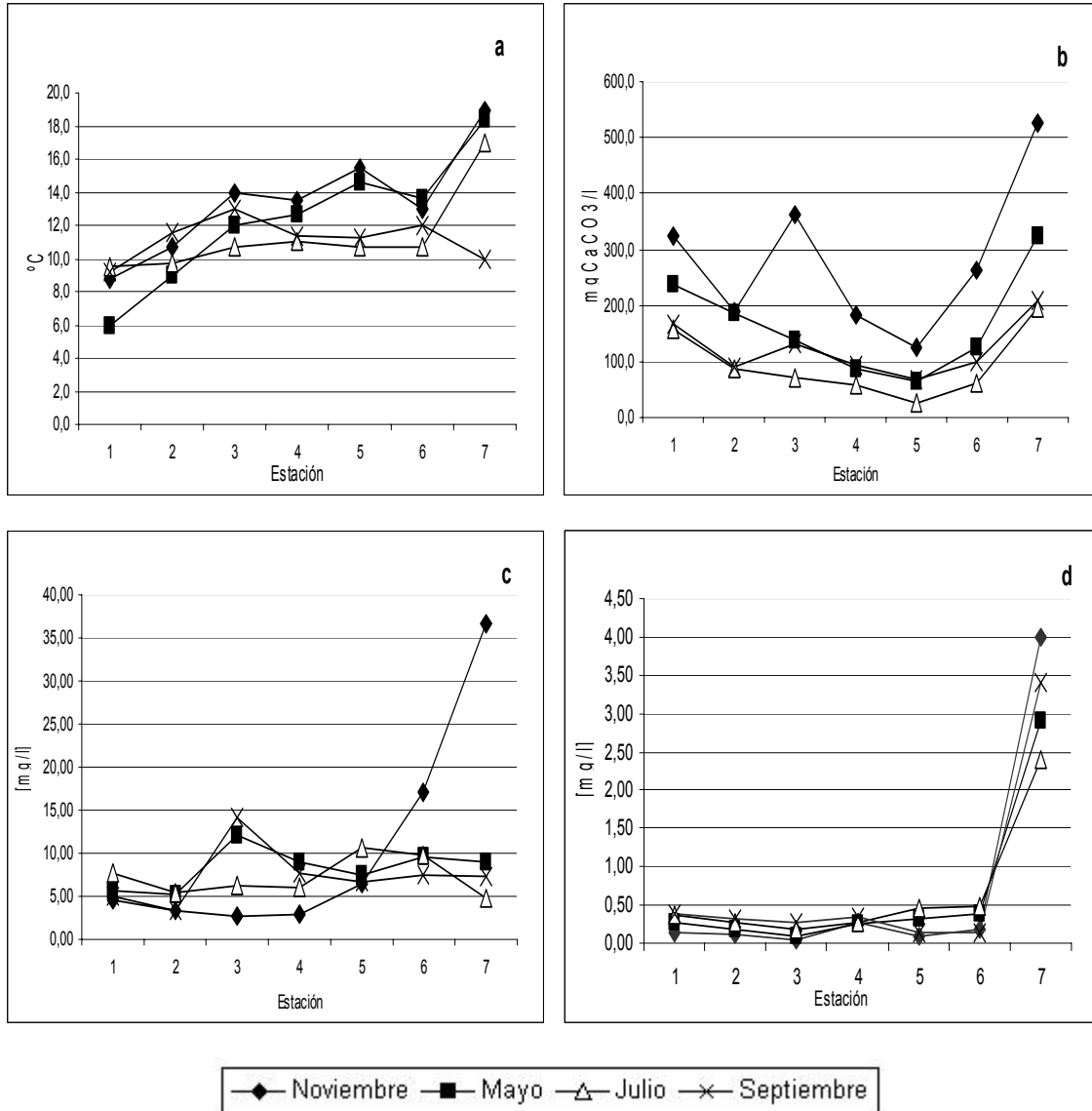


Figura 12. Variación temporal y espacial de los parámetros físico-químicos durante los periodos de estudio: temperatura (a), dureza (b), fósforo (c) y nitratos (d).

Las concentraciones de zinc total no exhibieron un patrón espacial ni temporal definido (Figura 13a), y no se superó la norma chilena de 2000 µg/L para aguas destinadas a riego (INN, 1987). Los niveles determinados son similares a los encontrados por la DGA en el año 2004 (DGA, 2004b). Lo anterior sugiere la ausencia de cambios significativos en las fuentes de descarga de este metal en el río Aconcagua entre el período de muestreo de dicho análisis y la fecha de muestreo de este estudio.

Altas concentraciones de molibdeno total se determinaron en noviembre, mayo y septiembre en la estación 3, lo que disminuyó considerablemente en julio (Figura 13b). La norma chilena para aguas destinadas a riego de 10 µg/L (INN, 1987) se superó en varias estaciones y periodos de estudio. La disminución de las concentraciones de molibdeno en julio puede deberse a la disminución del caudal de la descarga de la Planta de Molibdeno, observada en terreno. Las concentraciones de molibdeno de este estudio son similares a las determinadas por la DGA en el mismo sector el año 2004 (DGA, 2004b). Las altas concentraciones de molibdeno determinadas en la estación 3 durante el presente estudio sugieren el fuerte impacto del efluente de la Planta de Molibdeno, única fuente de descarga en el sector, ubicada aguas arriba de este punto de muestreo, sin embargo, concentraciones sobre la norma en la estación 1, que no se encuentra próxima a descargas mineras, puede indicar la presencia de fuentes naturales del metal.

Se determinaron bajas concentraciones de hierro total (Figura 13c) en comparación a la norma chilena para aguas destinada a riego (5000 µg/L) y a los niveles determinados en el estudio de la DGA del año 2004 en el mismo sector.

Altas concentraciones de cobre total se determinaron en la estación 3 y 6 en noviembre y septiembre y sólo en la estación 3 en mayo, superando la NCh1333 de 200 µg/L para aguas destinadas a riego (INN, 1987), mientras que en julio los niveles fueron más bajos (Figura 13d). Las altas concentraciones determinadas en la estación 3 podrían reflejar la descarga del metal atribuible a las actividades mineras del sector (Planta de Molibdeno). La disminución de la concentración en la estación 3 en julio, coincidió con la notoria disminución de la descarga del efluente minero cercano a esta estación. Concentraciones superiores de cobre total se determinaron en el año 2004 en el mismo sector por la DGA (DGA, 2004b).

En los estudios de Guevara (2006) y Richtera (2004), realizados en el norte y sur de Chile, respectivamente, se determinaron concentraciones más altas de cobre

total a las determinadas en el presente estudio, esta diferencia se explicaría debido a variaciones en los procesos productivos de las empresas mineras, en los tratamientos de los residuos líquidos generados, así como en diferencias de caudal de los ríos.

Concentraciones sobre los 183  $\mu\text{g/L}$  de cobre disuelto se determinaron en la estación 3 en noviembre, mayo y septiembre (Figura 13e), concentraciones que representan más del 60% del cobre total. Similar porcentaje representa el cobre disuelto del total del metal en el estudio de Kramer *et al.* (2004), sin embargo, las concentraciones de las fracciones disuelta y total del metal son más bajas en dicho estudio.

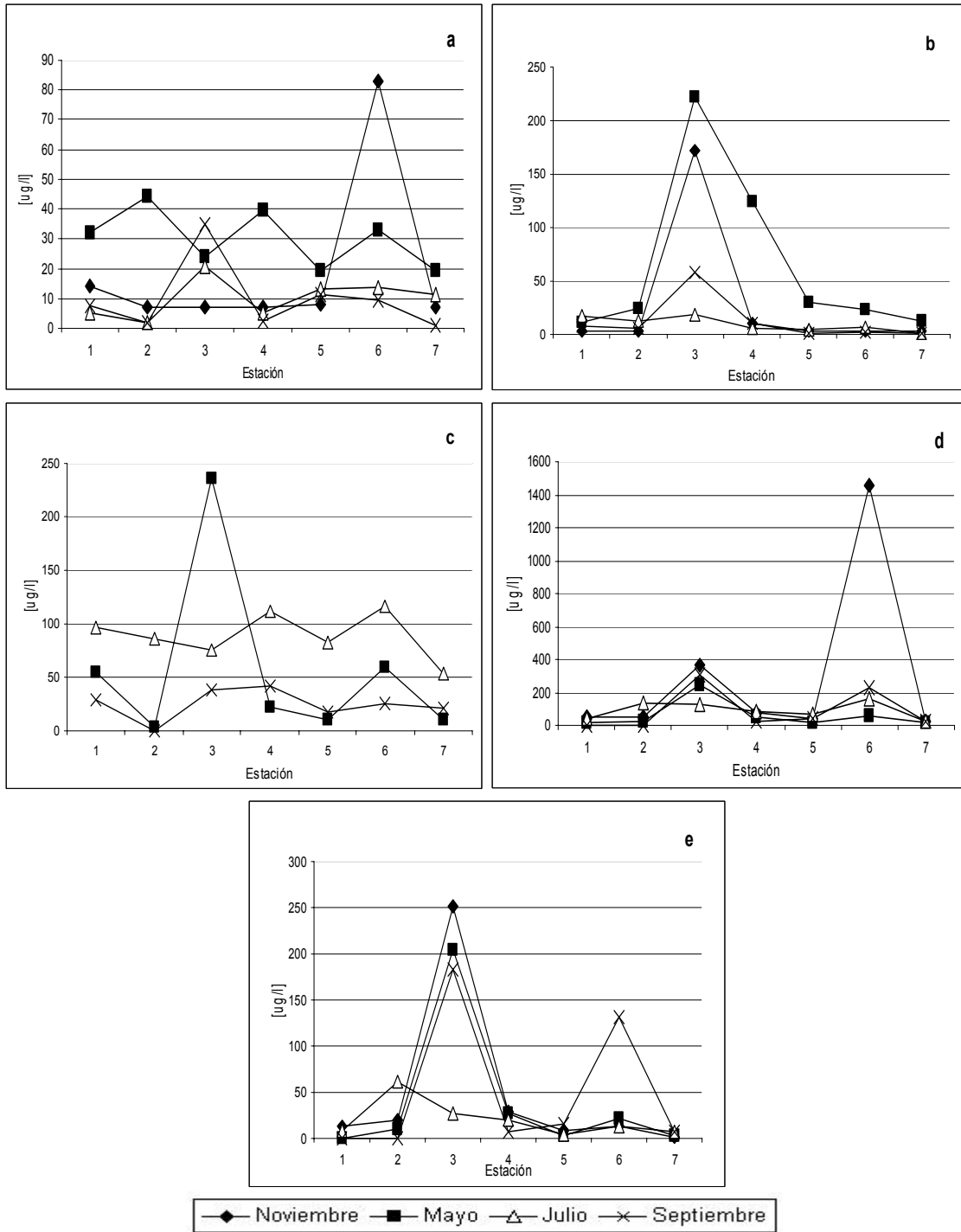


Figura 13. Variación temporal y espacial de la concentración de metales: zinc (a), molibdeno (b), hierro (c), cobre total (d) y cobre disuelto (e).

Debido a que muchos parámetros como pH, conductividad, sólidos disueltos y las concentraciones de los metales pesados, especialmente cobre total y disuelto, molibdeno y zinc totales, varían considerablemente en la estación 3, con respecto de las otras estaciones, se analizó físico químicamente, en agosto del 2006, el efluente minero de la Planta de Molibdeno, el cual sería el responsable de esta variación, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Análisis fisicoquímico del efluente minero de la Planta de Molibdeno.

Parámetro	
pH	7,07
Conductividad [mS/cm]	3,24
Sólidos disueltos totales [µg/L]	1,61
Temperatura [°C]	15,2
Cu total [µg/L]	1658
Cu disuelto [µg/L]	798
Zinc total [µg/L]	7900
Molibdeno total [µg/L]	3893
Hierro total [µg/L]	1970

Los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico realizado al efluente de la planta de molibdeno evidencian el impacto que genera la actividad minera sobre la calidad de las aguas en el sector de la estación 3.

Un factor importante que puede influir en la variación de los niveles de parámetros físico-químicos y en la concentración total de metales pesados es el caudal del río (Guevara *et al.*, 2006). El río Aconcagua presenta sus mayores caudales entre noviembre y marzo y los menores entre junio y septiembre (DGA, 2004b), estas variaciones pueden estar asociadas también al régimen mixto del río (Universidad

de Chile, 2002). Además, en las estaciones 4, 5 y 6 el caudal del río aumenta considerablemente (Figura 14), lo que podría favorecer la dilución de los metales, debido principalmente al aporte de los ríos Juncal y Colorado (Figura 1), disminuyendo su concentración en las aguas del Aconcagua, lo que no se aplica a la estación 7 debido a que se encuentra en un afluente del Aconcagua (Figura 1). Noviembre es el mes con mayores caudales, sin embargo, la estación 1 es la que presenta menores variaciones de caudal respecto de las demás estaciones (Figura 14), por lo que si bien la variación de caudal es importante para la dilución en las demás estaciones, en la estación 1 no representa mayores efectos. Otro factor importante que podría influir en la variación temporal de la concentración de los metales pesados y algunos parámetros fisicoquímicos, y que podría influir en los resultados de julio, son las variaciones temporales de la actividad productiva de las empresas mineras ubicadas en el sector estudiado.

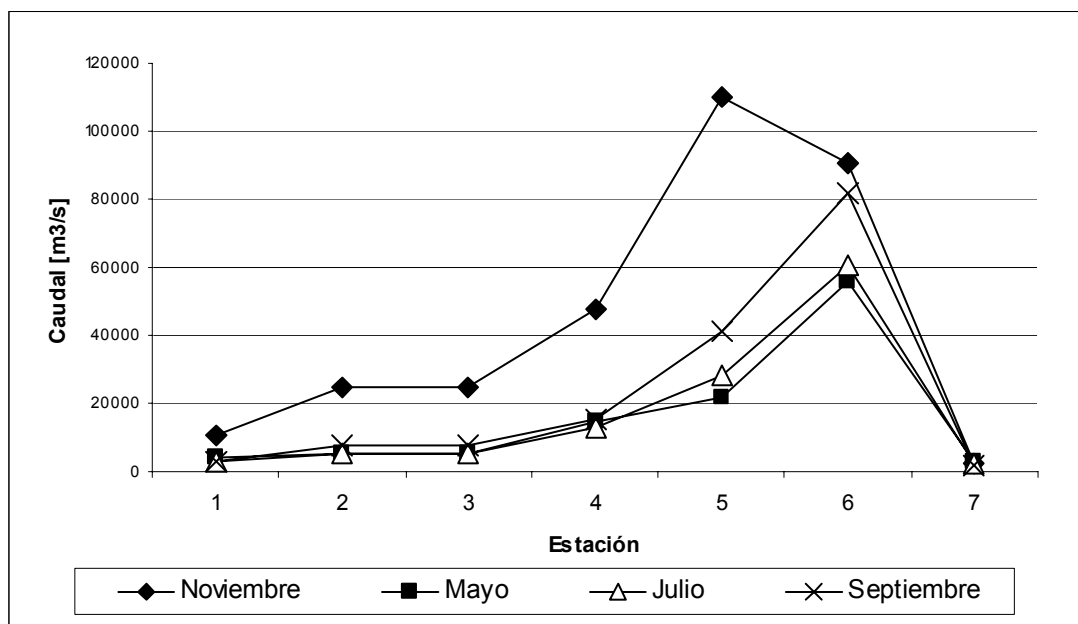


Figura 14. Caudal mensual en las estaciones de muestreo. Fuente: Dirección General de Aguas.



En noviembre, la densidad celular a las 96 horas, fue mayor en las estaciones 4 y 7 respecto al control, en tanto que las otras estaciones tuvieron una densidad celular menor que el control de laboratorio, siendo la más baja en la estación 3 (Figura 15a). Similares resultados se observaron en mayo, excepto que en la estación 6 se observó la menor densidad celular al final del bioensayo en relación al control de laboratorio (Figura 15b). En julio (Figura 15c) en todas las estaciones se observó a las 96 horas una menor densidad celular que el control, siendo la estación 3 la más baja. En septiembre, la densidad celular en las estaciones 1, 2 y 4 fue mayor que el control (Figura 15d), mientras que las otras estaciones (3, 5, 6 y 7) mostraron un menor crecimiento celular, siendo el más bajo en la estación 3.

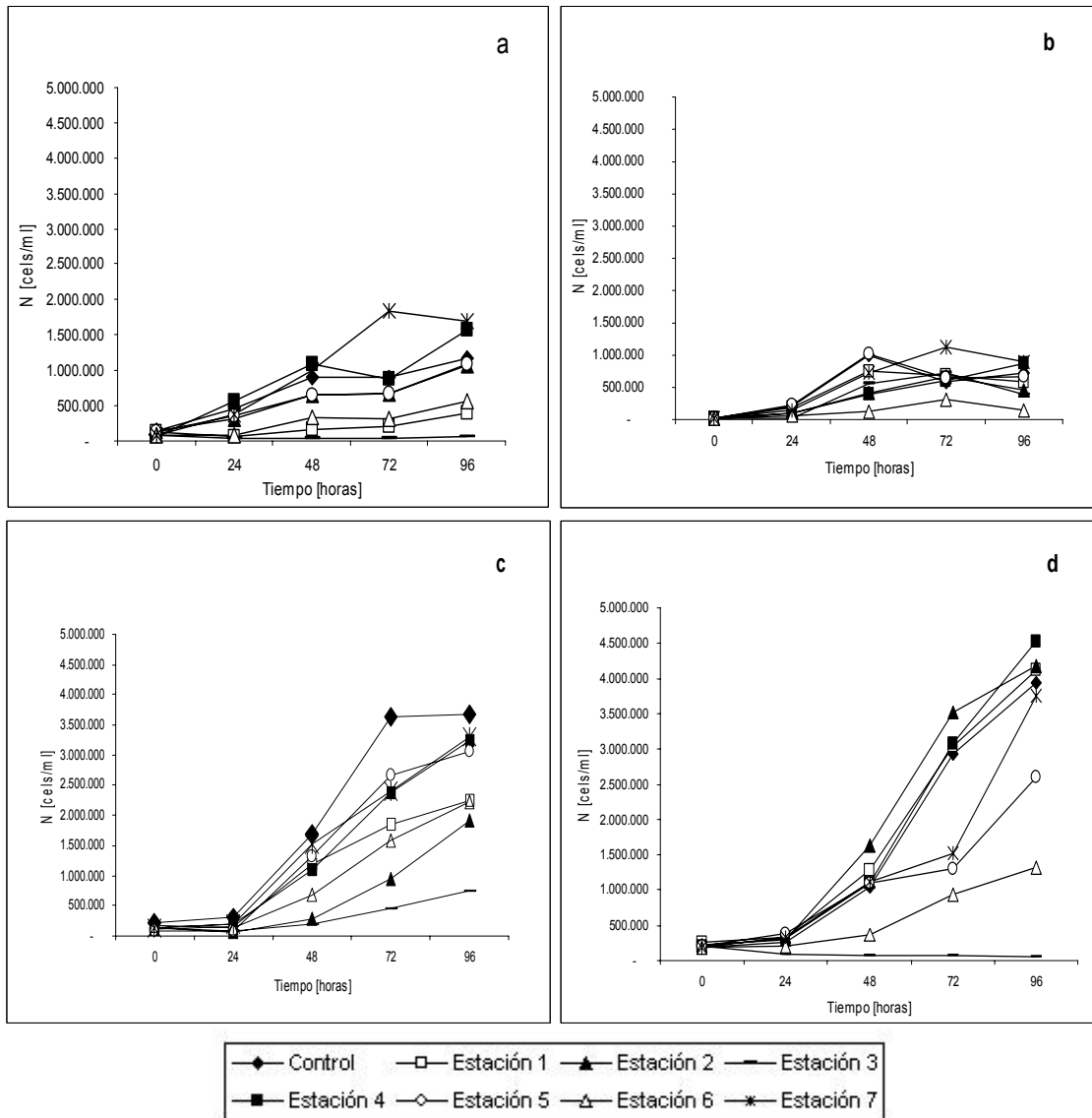


Figura 15. Curva de crecimiento para *Selenastrum capricornutum* durante los bioensayos: noviembre (a), mayo (b), julio (c) y septiembre (d).

Al comparar los crecimientos entre los períodos, se observa que éste fue mayor en los meses de julio y septiembre. En todos los periodos de estudio se observó un alto crecimiento celular en las estaciones 4 y 7 (Figura 15).

En las figuras 16 y 17 se observan efectos tanto inhibitorios como estimuladores de las muestras sobre el crecimiento de la microalga con respecto al control de laboratorio. En todos los periodos de estudio se observó un menor crecimiento

celular en las estaciones 3 y 6, lo que puede deberse a que en las estaciones 3 y 6 se determinaron los niveles más bajos de pH y mas altos de conductividad y concentración de sólidos disueltos totales así como altas concentraciones de metales pesados debido a que se encuentran próximas a fuentes de contaminación como efluentes mineros y descargas de aguas domiciliarias e industriales.

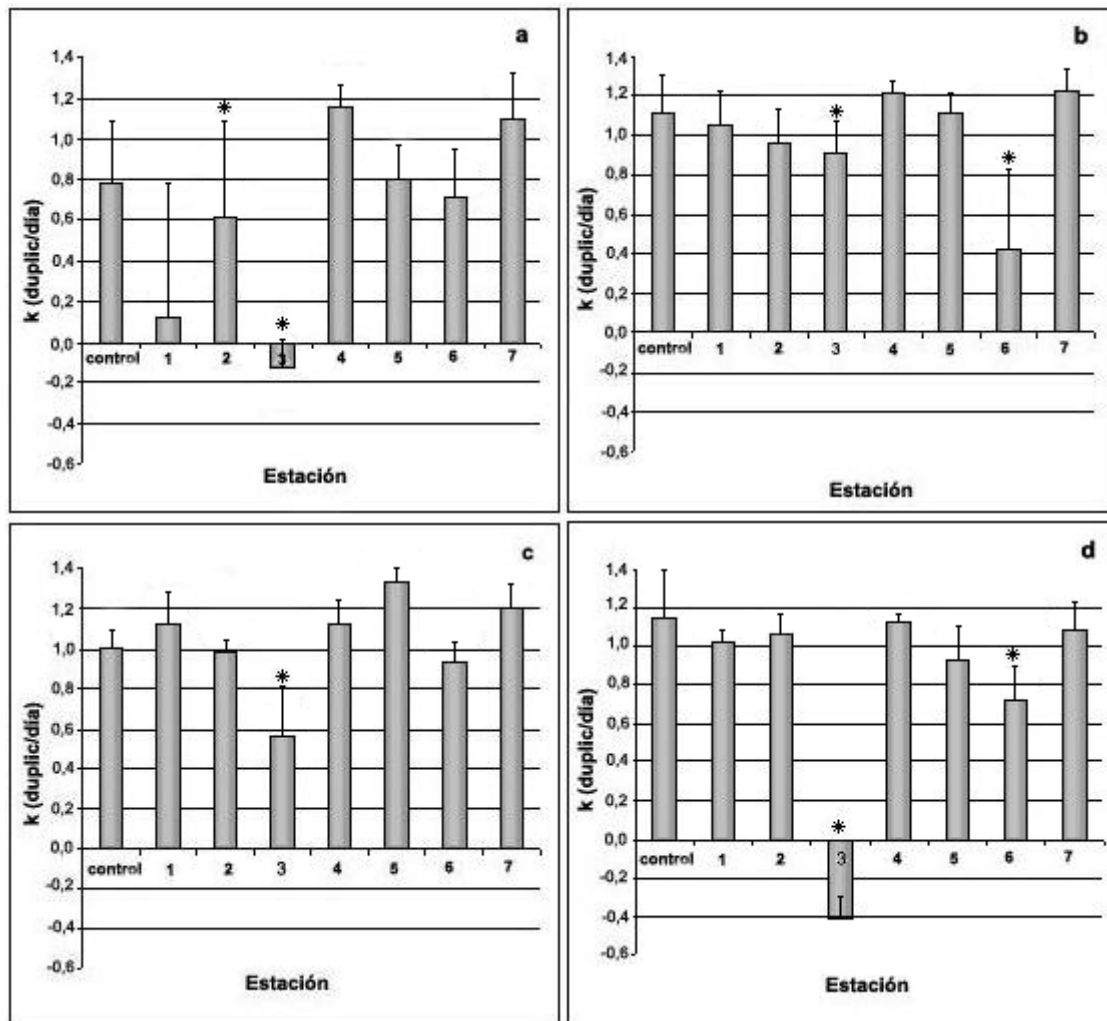


Figura 16. Tasa de crecimiento a las 96 horas para *Selenastrum capricornutum* durante los bioensayos: noviembre (a), mayo (b), julio (c) y septiembre (d). \* Indica diferencia significativa con la estación 7.

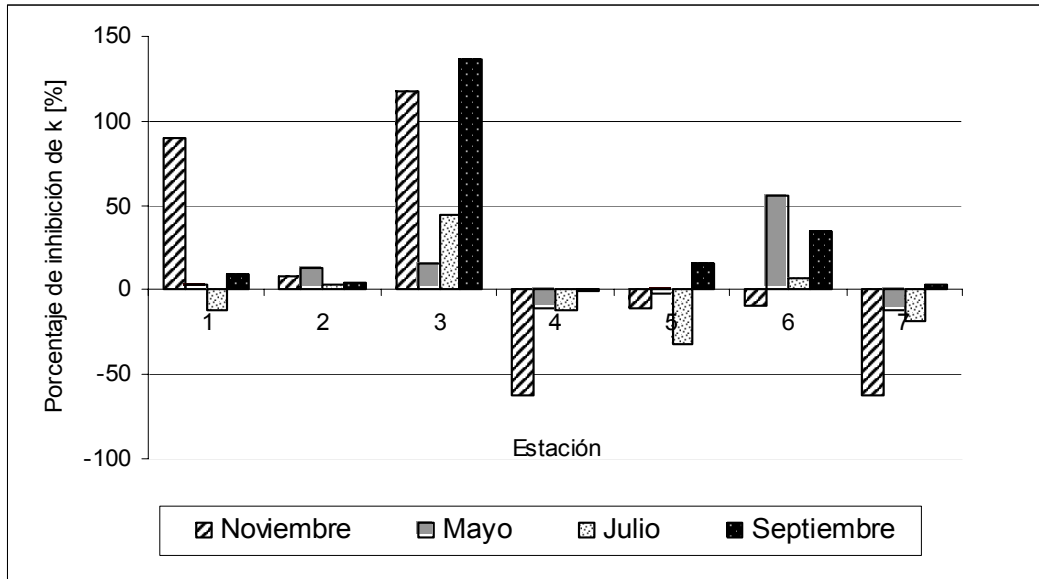


Figura 17. Porcentaje de inhibición de la tasa de crecimiento  $k$  a las 96 horas con respecto al control de laboratorio en los bioensayos.

En la figura 16a se observa que en la estación 1 en noviembre se produjo una baja tasa de crecimiento, no presentando diferencias significativas con la estación 3. Este punto es de especial interés, dado que la estación 1 no se encuentra afectada por la actividad minera de la zona, lo cual sugiere la existencia de otros agentes químicos no considerados en este estudio que provocaron efectos tóxicos sobre la microalga. La estación 3 en todos los períodos presentó inhibición del crecimiento con respecto al control de laboratorio (Figura 17), especialmente en los meses de noviembre y septiembre, coincidiendo con los niveles más bajos de pH, más altos niveles de conductividad y concentración de sólidos disueltos totales y las concentraciones más altas de metales pesados (Figuras 11, 12 y 13). Además, durante todos los períodos de estudio la estación 3 presentó diferencias significativas con respecto a la estación 7, establecida como estación control debido a que se encuentra en un afluente del río Aconcagua, no se ve afectada por la actividad minera de la zona y porque no presentó mayores variaciones en la tasa de crecimiento a las 96 horas (Figura 16).

La estación 4 presentó estimulación del crecimiento con respecto al control en todos los períodos de estudio (Figura 17), lo que se explicaría por el efecto de dilución provocada por la confluencia del río Blanco con el río Juncal (Figura 1), y que se vio reflejado, en comparación a la estación 3, en aumento del pH, disminución de la conductividad y concentración de sólidos disueltos totales y en la disminución de las concentraciones de cobre disuelto y total y molibdeno (Figuras 11, 12 y 13), disminuyendo los potenciales efectos tóxicos de agentes químicos como el cobre sobre la microalga. El comportamiento de la microalga en la estación 4 podría ser además, el resultado de la estimulación que se produce en bajas concentraciones de cobre (Franklin *et al.*, 2002).

Debido a que la estación 3 presentó elevados porcentajes de inhibición del crecimiento con respecto al control de laboratorio (Figura 17) se realizó en noviembre y septiembre bioensayos con diluciones, obteniéndose en noviembre un valor de  $IC_{50}=18,91\%$  y en septiembre un valor de  $IC_{50}=17,99\%$ .

Considerando que el valor de cobre total para la estación 3 en noviembre fue de 366  $\mu\text{g/L}$  y el de cobre disuelto de 251  $\mu\text{g/L}$ , el valor de  $IC_{50} = 18,91\%$  obtenido para la muestra, representaría una concentración nominal de cobre total 69,21  $\mu\text{g/L}$  respecto a la concentración de cobre presente en ese punto de muestreo, y un valor de cobre disuelto de 47,46  $\mu\text{g/L}$ . Mientras que en septiembre el valor de cobre total fue de 305  $\mu\text{g/L}$  y el de cobre disuelto fue de 183  $\mu\text{g/L}$ , el valor de  $IC_{50} = 17,99\%$  obtenido para la muestra, representaría una concentración de cobre total 54,86  $\mu\text{g/L}$  respecto a la concentración de cobre presente en ese punto de muestreo, y un valor de cobre disuelto de 32,92  $\mu\text{g/L}$ . Estos niveles se corresponden con los registrados en ensayos de laboratorio que señalan un  $IC_{50}$  de 6 – 439  $\mu\text{gCu/L}$  (Bossuyt y Janssen, 2004; Cyrino *et al.*, 2004).

En la Tabla 3 se muestran las correlaciones entre metales pesados y la tasa de crecimiento de *S. capricornutum*, destacándose en noviembre y mayo la significativa correlación entre las concentraciones de molibdeno y cobre disuelto y

en septiembre entre el zinc, cobre disuelto y molibdeno, lo que sugiere que estos metales provendrían de la misma fuente de descarga. Cabe destacar que en julio no se correlacionaron significativamente los metales estudiados, lo que podría deberse a la disminución de las descargas mineras, sumado al aumento de las temperaturas por la llegada de la primavera que trae consigo los deshielos y por consiguiente el aumento del caudal del río (ver Figura 14), favoreciendo la dilución de los metales estudiados.

Tabla 3. Correlaciones entre tasa de crecimiento (k) y metales pesados. \*: Correlación significativa ( $p < 0,05$ ) entre las variables.

	Bioensayo	k	Cu disuelto	Cu total	Zn	Mo	Fe
Cu disuelto	Noviembre	0,600	1,000				
	Mayo	-0,167	1,000				
	Julio	-0,438	1,000				
	Septiembre	-0,899*	1,000				
Cu total	Noviembre	-0,112	0,057	1,000			
	Mayo	-0,248	0,995*	1,000			
	Julio	-0,656	0,563	1,000			
	Septiembre	-0,883*	0,996*	1,000			
Zn	Noviembre	-0,016	-0,192	0,965*	1,000		
	Mayo	-0,187	-0,202	-0,180	1,000		
	Julio	-0,485	-0,376	0,208	1,000		
	Septiembre	-0,976*	0,838*	0,830*	1,000		
Mo	Noviembre	-0,604	0,998*	0,056	-0,192	1,000	
	Mayo	0,046	0,911*	0,903*	-0,044	1,000	
	Julio	-0,670	0,419	0,251	0,058	1,000	
	Septiembre	-0,928*	0,723	0,687	0,901*	1,000	
Fe	Noviembre	-	-	-	-	-	-
	Mayo	-0,289	0,961*	0,959*	-0,239	0,816*	1,000
	Julio	-0,043	0,025	0,476	-0,275	0,069	1,000
	Septiembre	-0,405	0,405	0,403	0,423	0,489	1,000

La relación inversa en septiembre entre la tasa de crecimiento (k) y el cobre disuelto, cobre total, zinc y molibdeno (Tabla 3) puede indicar que las concentraciones de estos metales pesados durante este período de estudio serían las que provocaron la toxicidad de las aguas que ocasionó la inhibición de la tasa de crecimiento de la microalga durante el bioensayo.

En mayo y septiembre el pH y cobre disuelto presentaron una correlación significativa, además las estaciones que presentaron niveles de pH más ácido

fueron las estaciones 3 y 6, coincidiendo con niveles de cobre disuelto más elevados. Esto podría explicarse porque al disminuir el pH aumenta la sorción, incrementando las concentraciones de las fracciones disuelta y biodisponible del metal (Baker *et al.*, 2003).

Un factor que no fue medido en este estudio, pero que podría haber contribuido a reducir la toxicidad de los metales en las estaciones con mayor influencia urbana, es el carbono orgánico disuelto. Este parámetro puede ser importante en la evaluación de la toxicidad de cobre, debido que los complejos orgánicos actúan reduciendo la toxicidad de este metal (Bossuyt y Janssen, 2004; Meador *et al.*, 1998; Kramer *et al.*, 1998).

A diferencia del factor anteriormente mencionado, que actúa sobre la biodisponibilidad de los metales, la temperatura influencia el metabolismo biológico, incluyendo las actividades de defensa enzima-dependientes contra los efectos de contaminantes (Eggen *et al.*, 2004). Este parámetro en este caso no influye sobre la microalga, debido a que durante los bioensayos se controló la temperatura, manteniéndose constante para todos los tratamientos.

Por otra parte, la baja correlación entre los metales pesados y la tasa de crecimiento, excepto en el mes de septiembre, podría deberse a la presencia del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) disódico dihidrato en el medio de prueba, ya puede afectar la acción de los metales sobre el organismo de prueba, debido a que es un agente quelante que produce complejos, relativamente no tóxicos para las células, con muchos metales como el aluminio, bario, cadmio, cobalto, cobre, hierro, plomo, manganeso (+2), níquel, estroncio y zinc reduciendo su toxicidad. Por lo tanto, es importante considerar la presencia de éste agente quelante dentro de la formulación del medio de prueba que es utilizado para los bioensayos de toxicidad (Rodríguez y Rivera, 1995; Bossuyt y Janssen, 2004; Muysen y Janssen, 2001; Guéguen *et al.*, 2003). En el presente estudio se utilizó este

agente en la composición del medio de cultivo, lo que podría haber reducido la acción tóxica de los iones libres de los metales pesados sobre las microalgas.



## 8. CONCLUSIONES

Las aguas superficiales del río Aconcagua presentaron mayor influencia de la actividad minera en las estaciones cercanas a efluentes mineros.

Las aguas superficiales del río Aconcagua consideradas en este estudio pudieron estar influenciadas por la actividad minera dada por el incremento en las concentraciones de los metales pesados, especialmente cobre y molibdeno que estuvieron sobre la norma chilena de calidad de aguas en los periodos de noviembre, mayo y septiembre.

Las mayores inhibiciones del crecimiento de *S. capricornutum* se registraron en los tratamientos de las estaciones cercanas a efluentes mineros y centros poblados.

Se observó toxicidad en estaciones que presentaron altas concentraciones de cobre y molibdeno. Sólo en septiembre se observó una correlación inversa entre la respuesta de *S. capricornutum* y las concentraciones de cobre en sus diferentes fracciones químicas, molibdeno y zinc totales.

Debido a la escasez de datos sobre la aplicación de bioensayos microalgales en ríos de Chile, los resultados obtenidos proveen valiosa información complementaria para evaluar y comprender de mejor forma el impacto de la actividad minera local sobre la calidad de las aguas superficiales.

## 9. REFERENCIAS

ASSELBORN V. y DOMITROVIC Y. 2000. Aplicación de bioensayos algales uniespecíficos para evaluar los efectos de un efluente textil y la calidad del agua de una laguna receptora (Corrientes, Argentina). En: Ecotoxicología perspectivas para o século XXI. Espindola et all edits. San Carlos Brasil. 352-354.

BAKER S., HERRCHEN M., HUND-RINKE K., KLEIN W., KÖRDEL W., PEIJNENBURG W. y RENSING C. 2003. Underlying issues including approaches and information needs in risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. N°56 pag 6-19.

BOSSUYT B. y JANNSEN C. 2004. Long-term acclimatation of *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindak to different copper concentrations: changes in tolerance and physiology. *Aquatic Toxicology*. N°68 pag 61-74.

CALOW P. 1993. *Handbook of Ecotoxicology*. Segunda Edición. Reino Unido. Blackwell Science. Volumen I.

COMISIÓN NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE (CONAMA). 2004. Política ambiental de la Región de Valparaíso.

CYRINO DE OLIVEIRA-FILHO E., MATOS R. y ROMA F. 2004. Comparative study on the susceptibility of freshwater species to copper-based pesticides. *Chemosphere*. N°56 pag 369-374.

DIRECCIÓN GENERAL DE AGUAS (DGA). 2004a. Departamento de Administración de Recursos Hídricos. Evaluación de los recursos hídricos superficiales en la cuenca del río Aconcagua. Informe Técnico.

DIRECCIÓN GENERAL DE AGUAS (DGA). 2004b. Diagnostico y clasificación de los cursos y cuerpos de agua según objetivos de calidad. Cuenca del río Aconcagua.

EGGEN R., BEHRE R., BURKHARDT – HOLM P., ESCHER B., SCHWEIGERT N., SWISS FEDERAL INSTITUTE FOR THE ENVIRONMENT SCIENCE AND TECHNOLOGY (EAWAG). 2004. Challenges in Ecotoxicology. Environmental Science & Technology. (February 1): 58A – 64A.

FRANKLIN N., STAUBER J., APTE S. y LIM R. (2002) Effect of initial cell density on the bioavailability and toxicity of copper in microalgal bioassays. Environmental Toxicology and Chemistry. Vol 21 N° 4 pag 742-751.

GAETE H., LARRAÍN A., BAY-SCHMITH E., CIFUENTES A., RODRIGUEZ J. y BAEZA J. 1999. Toxicidad crónica y características físico-químicas de aguas receptoras de efluentes de industrias de celulosa localizadas en la Cuenca del Río Biobio (Chile, central.).

GUÉGUEN C., KOUKAL B., DOMINIO J. y PARDOS M. 2003. Competition between alga (*Pseudokirchneriella subcapitata*), humic substances and EDTA for Cd and Zn control in the algal assay procedure (AAP) medium. Chemosphere. N° 53 pag 927-934.

GUEVARA S., OYARZÚN J., MATURANA H. 2006. Geoquímica de las Aguas del Río Elqui y de sus Tributarios en el Período 1975-1995: Factores Naturales y Efecto de las Explotaciones Mineras en sus Contenidos de Fe, Cu y As. Agricultura técnica. Vol 66 N°1 pag 57-69.

HENRY G. y HEINKE G. 1999. Ingeniería Ambiental. Prentice Hall, México.

INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (INN) 1987. NCh 1333.Of78. Requisitos de Calidad del Agua para Diferentes Usos – Requisitos de Agua para Riego.

INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (INN). 1998. NCh 411/6. Of1998. Calidad del agua - Muestreo - Parte 6: Guía para el muestreo de ríos y cursos de agua. 15 pp.

INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION (INN). 2002. Norma Chilena Oficial NCh 2706.Of2002 Calidad de agua – Bioensayo de inhibición de crecimiento de algas en agua dulce con *Selenastrum capricornutum* (*Raphidocelis subcapitata*).

KLERKS P. y WEIS J. 1987. Genetic adaptation to heavy metals in aquatic organisms: A review. Environmental pollution. N°45 pag 173-205.

KOUKAL B., GUÉGUEN C., PARDOS M. y DOMINIK J. 2003. Influence of humic substances on the toxic effects of cadmium and zinc to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. Chemosphere. N° 52 pag 953-961.

LEWIS M. 1993. Freshwater Primary Producers. CALOW P.: Handbook of Ecotoxicology. Segunda Edición. Reino Unido. Blackwell Science.

LEWIS M. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: A review. Environmental pollution. N° 87 pag 319-336.

LI X., PING X., XIUMEI S., ZHENBIN W. y LIQIANG X. 2005. Toxicity of cypermethrin on growth, pigments, and superoxide dismutase of *Scenedesmus obliquus*. Ecotoxicology and Environmental Safety. N° 60 pag 188-192.

MA M., WANGZHAO Z., WANG Z. y WITKAMP G. 2003. Accumulation, assimilation and growth inhibition of copper on freshwater alga (*Scenedesmus subspicatus* 86.81 SAG) in the presence of EDTA and fulvic acid. Aquatic Toxicology. N°63 pag 221-228.

MAYFIELD C. 1993. Microbial Systems. CALOW P.: Handbook of Ecotoxicology. Segunda Edición. Reino Unido. Blackwell Science.

MEADOR J., SIBLEY T., SWARTZMAN G. y TAUB F. 1998. Copper tolerance by the freshwater algal species *Oocystis pusilla* and its ability to alter free-ion copper. *Aquatic Toxicology*. N° 44 pag 69-98.

MUYSSSEN B. y JANSSEN C. 2001. Zinc acclimation and its effect on the zinc tolerance of *Raphidocelis subcapitata* and *Chlorella vulgaris* in laboratory experiments. *Chemosphere*. N°45 pag 507-514.

OKAMURA H., PIAO M., AOYAMA I., SUDO M., OKUBO T. y NAKAMURA M. 2002. Algal growth inhibition by river water pollutants in the agricultural area around Lake Biwa, Japan. *Environmental pollution*. N° 117 pag 411-419.

PEIJNENBURG Q. y JAGER T. 2003. Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: Matrix sigues. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. N°56 pag 63-77.

RICHTERA P., SEGUEL R., AHUMADA I. 2004. Arsenic speciation in environmental samples of a mining impacted sector of central Chile. *Journal of the Chilean Chemical Society*. Vol 49 N°4 pag 333-339.

RODRÍGUEZ L. y RIVERA D. 1995. Efecto del cobre y cadmio en el crecimiento de *Tetraselmis suecica* (KYLIN) BUTCHER Y *Dunaliella salina* TEODORESCO. *Estud. Oceanol*. N°14 pag 61-74.

ROMERO J. 1999. Calidad del agua. Segunda Edición. México. Alfaomega.

SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO (SAG). 2001. Consolidado del programa de prevención y contaminación de los recursos hídricos año 1999. pag 73-102.

SILVA J., TORREJON G., BAY-SCHMITH E. y LARRAIN A. 2003. Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (Crustacea: Cladocera) usando un toxico de referencia. *Gayana (Concep.)*. [en línea]. vol 67 no.1 [visita: mayo 2005], p.87-96. Disponible en World Wide Web: [http://www.scielo.php?script=sci\\_arttex&pid=SO717-65382003000100011&lng=es&nrm=iso.ISSN 0717-6538](http://www.scielo.php?script=sci_arttex&pid=SO717-65382003000100011&lng=es&nrm=iso.ISSN 0717-6538).

UNIVERSIDAD DE CHILE, INSTITUTO DE ASUNTOS PUBLICOS. 2002. Informe País. Estado del Medio Ambiente en Chile 2002. Primera Edición. LOM Ediciones.

WALSH G, YODER M, LAUGHLIN L y LORES E. 1987. Responses of marine unicellular algae to brominated organic compound in six growth media. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. N°14 pag 215-222.

WARD T., RAUSINA G., STONEBRAKER P. y ROBINSON W. 2002. Apparent toxicity resulting from the sequestering of nutrient trace metals during standard *Selenastrum capricornutum* toxicity test. *Aquatic Toxicology*. N° 60 pag 1-16.

YAN H. y PAN G. 2002. Toxicity and bioaccumulation of copper in three green microalgal species. *Chemosphere*. N°49 pag 471-476.

## 10. ANEXOS

### 10.1. Parámetros físico-químicos

Parámetro	Muestreo	Estación						
		1	2	3	4	5	6	7
pH	Noviembre	8,35	8,34	8,03	8,26	8,37	8,06	8,08
	Mayo	8,24	8,11	7,20	8,08	8,15	7,93	8,13
	Julio	8,27	8,10	7,90	8,10	8,00	8,00	8,30
	Septiembre	8,18	7,90	7,50	7,88	7,87	7,80	8,26
Conductividad [mS/cm]	Noviembre	0,32	0,19	1,80	0,29	0,14	0,26	0,53
	Mayo	0,52	0,40	1,80	0,60	0,27	0,48	0,52
	Julio	0,44	0,30	0,37	0,29	0,20	0,37	0,53
	Septiembre	0,36	0,21	1,50	0,25	0,16	0,25	0,48
Sólidos Disueltos Totales [µg/L]	Noviembre	0,16	0,09	0,90	0,14	0,06	0,14	0,27
	Mayo	0,27	0,23	1,23	0,33	0,15	0,26	0,28
	Julio	0,21	0,14	0,18	0,15	0,10	0,17	0,27
	Septiembre	0,18	0,11	0,53	0,12	0,08	0,12	0,24
Oxígeno Disuelto [mg/L]	Noviembre	11,10	10,40	9,50	10,10	8,80	7,30	8,80
	Mayo	10,30	10,00	10,90	10,40	10,10	10,60	10,50
	Julio	12,50	12,10	12,10	11,80	12,70	12,00	12,10
	Septiembre	11,80	7,40	7,60	7,35	10,60	10,10	10,00
T [°C]	Noviembre	8,80	10,70	13,90	13,50	15,50	13,00	18,90
	Mayo	5,90	9,00	12,00	12,60	14,60	13,60	18,40
	Julio	9,50	9,70	10,70	11,00	10,70	10,70	17,00
	Septiembre	9,20	11,60	13,00	11,40	11,20	12,00	10,00
Dureza mg CaCO <sub>3</sub> /L	Noviembre	325,00	188,00	361,00	184,00	125,00	264,00	526,00
	Mayo	238,00	187,00	138,00	86,10	64,80	124,00	323,00
	Julio	158,00	85,10	70,80	58,20	26,70	60,70	196,00
	Septiembre	166,00	89,60	130,00	92,10	67,70	98,60	208,00
P [mg/L]	Noviembre	4,49	3,32	2,68	2,82	6,47	17,06	36,63
	Mayo	5,63	5,23	12,11	8,96	7,60	9,61	9,06
	Julio	7,72	5,34	6,20	6,05	10,69	9,70	4,76
	Septiembre	5,04	3,30	14,12	7,66	6,60	7,46	7,19
NO <sub>3</sub> -N [mg/ L]	Noviembre	0,14	0,11	0,05	0,28	0,09	0,18	4,00
	Mayo	0,28	0,19	0,09	0,25	0,32	0,38	2,90
	Julio	0,37	0,27	0,19	0,27	0,45	0,49	2,40
	Septiembre	0,39	0,32	0,28	0,34	0,13	0,13	3,40

## 10.2. Concentración de metales.

Parámetro	Muestreo	Estación						
		1	2	3	4	5	6	7
<b>Zinc [ug/L]</b>	Noviembre	14,0	7,0	7,0	7,0	8,0	83,0	7,0
	Mayo	32,2	44,1	24,2	39,6	19,4	32,9	19,4
	Julio	5,0	1,9	20,5	5,1	13,0	13,5	11,1
	Septiembre	7,6	1,8	34,9	2,1	11,2	9,6	1,1
<b>Molibdeno [ug/L]</b>	Noviembre	3,0	4,0	172,0	10,0	4,0	4,0	3,0
	Mayo	11,1	24,8	222,0	125,0	29,7	23,7	12,4
	Julio	17,1	13,2	18,7	5,4	4,8	6,4	1,5
	Septiembre	8,4	6,0	57,6	10,7	1,1	2,2	1,0
<b>Hierro [ug/L]</b>	Noviembre	-	-	-	-	-	-	-
	Mayo	55,2	3,0	236,0	21,8	10,7	59,7	9,9
	Julio	96,7	85,9	75,9	112,0	82,4	116,0	54,0
	Septiembre	28,6	0,3	38,0	42,0	18,0	25,8	20,6
<b>Cu Total [ug/L]</b>	Noviembre	49,0	48,0	366,0	78,0	39,0	1458,0	24,0
	Mayo	13,0	30,0	250,0	51,0	21,0	62,0	20,0
	Julio	39,0	134,0	126,0	86,0	65,0	160,0	30,0
	Septiembre	0,6	0,6	305,0	22,2	42,0	234,0	27,5
<b>Cu Disuelto [ug/L]</b>	Noviembre	12,4	19,3	251,0	28,2	8,4	12,8	1,9
	Mayo	0,5	9,7	205,0	26,5	2,6	21,4	3,4
	Julio	8,9	61,7	27,7	20,5	5,0	13,2	7,1
	Septiembre	0,5	0,5	183,0	7,21	15,3	132,0	7,9