



**Segundo Informe de Avance**

**“ESTUDIO SOBRE ORIGEN DE MORTALIDADES Y  
DISMINUCION POBLACIONAL DE AVES ACUATICAS EN EL  
SANTUARIO DE LA NATURALEZA CARLOS ANWANDTER,  
EN LA PROVINCIA DE VALDIVIA”**

**Convenio Complementario Específico N° 1210-1203/2004-12-14**

**DIRECCION REGIONAL CONAMA Xª REGION DE LOS LAGOS - UNIVERSIDAD  
AUSTRAL DE CHILE**

**11 de Febrero, 2005**

## INDICE

---

|   | <b>Página</b> |
|---|---------------|
| Resumen   | 1             |
| 1. Antecedentes   | 4             |
| 2. Objetivos  | 4             |
| 2.1. Objetivo General   | 4             |
| 2.1. Objetivos Específicos  | 4             |
| 3. Contenidos del Segundo Informe de Avance   | 5             |
| 4. Análisis anatomopatológicos, histopatológicos y toxicológicos en ejemplares de cisnes de cuello negro recolectados en el Santuario, humedales adyacentes a Valdivia y zona de Puerto Natales ( <u>estos estudios son de carácter complementario al Primer Informe de Avance</u> ). | 6             |
| 4.1. Antecedentes generales   | 7             |
| 4.2. Examen anatomopatológico   | 8             |
| 4.3. Examen parasitológico  | 13            |
| 4.4. Examen micológico  | 13            |
| 4.5. Examen de bioquímica clínica   | 13            |
| 4.6. Contenidos de metales pesados  | 14            |
| 4.7. Conclusiones   | 18            |
| 5. Distribución, cobertura, concentración de químicos y su efecto sobre la estructura anatómica del Luchecillo, <i>Egeria densa</i>   | 19            |
| 5.1. Origen e historia natural de <i>Egeria densa</i>   | 19            |
| 5.2. Distribución espacial en el pasado y cobertura actual de   | 27            |

|  |     |
|--|-----|
| <i>Egeria densa</i> en el Santuario y humedales adyacentes   |     |
| 5.3. Revisión bibliográfica sobre efectos de metales pesados en plantas acuáticas  | 40  |
| 5.4. Estudio toxicológico del Luchecillo del Santuario y lugares adyacentes  | 52  |
| 5.5. Análisis de microscopía electrónica de barrido (MEB) en plantas de <i>Egeria densa</i> del Santuario y lugares adyacentes | 77  |
| 5.6. Conclusiones  | 101 |
| 6. Biodisponibilidad de metales pesados en aguas del río Cruces  | 105 |
| 6.1. Antecedentes  | 105 |
| 6.2. Metodologías  | 105 |
| 6.3. Resultados  | 108 |
| 6.4. Conclusiones  | 111 |
| 7. Calidad de los sedimentos   | 112 |
| 7.1. Metodologías para análisis de texturales y granulométricos, de contenido de materia orgánica en el sedimento              | 112 |
| 7.2. Metodologías para análisis químicos del sedimento   | 113 |
| 7.3. Resultados  | 115 |
| 7.4. Conclusiones  | 140 |
| 8. Participantes en las actividades a las que se hace referencia en este Informe   | 141 |

---

La Universidad Austral de Chile (UACH), es una institución de educación superior conciente de la importancia que tiene la riqueza de la diversidad biológica y cultural, para las generaciones presentes y futuras.

En consecuencia, todos los programas de enseñanza y el desarrollo de la investigación por parte de los académicos que la integran, se sustentan en valores de conservación, protección de la vida y la diversidad en sus múltiples formas.

En el ámbito educativo, la UACH ha incorporado espacios que permiten el desarrollo y la integración del conocimiento y la experiencia. En este contexto, organiza y articula la información y la comunicación, para fortalecer, no solo el conocimiento adquirido en el aula, sino también, la comprensión del entorno y la relación del hombre con su medio ambiente.

En el siglo XXI, la labor de extensión de la Universidad es concebida como un vínculo entre la misma y la sociedad. Es por ello, que la extensión y la divulgación científica ocupan un lugar importante en el quehacer de la Universidad, ya que por medio de ella, es posible generar vínculos entre las instituciones y las personas.

La Universidad Austral de Chile, en su rol como Universidad de Investigación y de la importancia de la misma para la comprensión de los procesos naturales, aceptó realizar el “ESTUDIO SOBRE ORIGEN DE MORTALIDADES Y DISMINUCIÓN POBLACIONAL DE AVES ACUÁTICAS EN EL SANTUARIO DE LA NATURALEZA CARLOS ANWANDTER, EN LA PROVINCIA DE VALDIVIA”, solicitado por CONAMA ante la emigración y mortalidad de cisnes de cuello negro (*Cygnus melancoryphus*) en ese humedal, sitio RAMSAR desde el año 1981. Este es el Segundo Informe de Avance de este estudio y está dedicado primariamente al estudio de las condiciones actuales del Luchecillo y a la calidad de los fondos sedimentarios del Santuario y humedales adyacentes.

## Resumen

En este Segundo Informe del Estudio “ESTUDIO SOBRE ORIGEN DE MORTALIDADES Y DISMINUCION POBLACIONAL DE AVES ACUATICAS EN EL SANTUARIO DE LA NATURALEZA CARLOS ANWANDTER, EN LA PROVINCIA DE VALDIVIA” se analizan los resultados de: i) estudios anatomopatológicos, histopatológicos y toxicológicos, en ejemplares de cisnes de cuello negro recolectados en el Santuario de la Naturaleza Carlos Anwandter, humedales adyacentes a Valdivia y zona de Puerto Natales, ii) estudios sobre la situación actual del Luchecillo, *Egeria densa*, iii) biodisponibilidad de metales traza en aguas del río Cruces, y iv) estudios de calidad de sedimentos del río Cruces y humedales adyacentes.

El análisis de nuevas muestras de cisnes de cuello negro (*Cygnus melancoryphus*), tanto del área del Santuario de la Naturaleza Carlos Anwandter, como fuera de este, permite validar las conclusiones entregadas en el Primer Informe de Avance. Los cisnes del Santuario han muerto por un cuadro severo de emaciación, debido a la carencia de su alimento principal, el Luchecillo. Esto se debe a la drástica disminución de la cobertura espacial de esta planta, observada en distintas áreas del Santuario y humedales adyacentes. Los nuevos análisis también muestran, que en los hepatocitos de esos ejemplares, se observó una alta concentración de Hierro, la que está directamente relacionada con la absorción de este metal a nivel intestinal. Debido a que las plantas de Luchecillo recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes, muestran altas concentraciones de metales pesados (principalmente Hierro), puede concluirse que las altas concentraciones de este metal en los hígados de los cisnes de cuello negro del Santuario, están relacionadas con las altas concentraciones de este metal en las plantas.

Las poblaciones de *Egeria densa* existentes en el Santuario y humedales adyacentes, presentan un estado avanzado de deterioro. Se observa, un color pardo en los tallos y hojas con escasa biomasa, exceso de necromasa y una porción importante de raíces anormales. Los análisis toxicológicos realizados a

plantas de Luchecillo en diferentes áreas del Santuario, muestran altas concentraciones de metales pesados como Hierro y Manganeseo, entre otros (promedios de 30958.95 y 9034.79 mg / kg de peso seco). Las concentraciones de Hierro encontradas en esas plantas son más altas que las encontradas en sitios prístinos del sur de Brasil donde ocurre esta misma especie y otra del mismo género (cerca de 2500 mg / kg). Los resultados de experimentos de laboratorio, permiten comprobar que altas concentraciones de metales pesados son la causa de la muerte masiva del Luchecillo. El color pardo que presentan los tallos y hojas de *Egeria densa*, se debe a la aparición de una cubierta (coloide-plancton), rica en metales y que interfiere con el proceso de fotosíntesis al producir un efecto de bloqueo de la luz solar. Además, se menciona en la literatura que ese color pardo es típico de exceso de Hierro y/o Manganeseo en el organismo de plantas acuáticas. El análisis comparativo de los resultados de experimentos de terreno y laboratorio, señala que la composición química del agua existente en la actualidad en el Santuario, no presenta la toxicidad que probablemente tuvo la misma durante el 2004 y que habría ocasionado la muerte y desaparición de las poblaciones de Luchecillo.

Los estudios puntuales de biodisponibilidad de metales pesados disueltos en aguas del río Cruces, muestran que en general, la concentración de esos metales no difiere a lo largo del gradiente geográfico analizado, el cual incluyó muestras aguas arriba del Santuario y dentro del mismo.

El Hierro y el Manganeseo, fueron los metales pesados que presentaron las concentraciones más altas en sedimentos recolectados en las estaciones dentro del Santuario y fuera del mismo. Sin embargo, las concentraciones promedio de Hierro y Manganeseo en los sedimentos del Santuario (42196.57 y 1170.70 mg / kg, respectivamente), fueron significativamente mayores que las de los sedimentos de los ríos Calle-Calle y Valdivia (28916.67 mg / kg para el Hierro y 325.67 mg / kg para el Manganeseo). Las concentraciones de Hierro, Zinc y Cobre, en los sedimentos del Santuario fueron mayores a las detectadas en estudios anteriores en los sedimentos de los ríos Calle-Calle, Valdivia, Cau-Cau y Bahía de Corral.

Las concentraciones de AOX en los sedimentos fueron más altas en el sector Rucaco, a partir del cual disminuyen hacia el interior del Santuario. Otros compuestos orgánicos detectados como trazas fueron ftalatos,  $\alpha$ -pineno y  $\alpha$ -cubebeno y un compuesto asignado a tributil fosfato (TBF).

# **“ESTUDIO SOBRE ORIGEN DE MORTALIDADES Y DISMINUCION POBLACIONAL DE AVES ACUATICAS EN EL SANTUARIO DE LA NATURALEZA CARLOS ANWANDTER, EN LA PROVINCIA DE VALDIVIA”**

## **1. Antecedentes**

Debido a la importancia que reviste conservar el Santuario de la Naturaleza Carlos Anwandter, y ante la reciente migración y mortalidad de la avifauna de éste, se ha visto la necesidad de contar con un estudio que permita estimar el grado de conservación en el que se encuentra y estimar si el origen de este fenómeno se debe a causas naturales (cíclicas, migratorias, ecológicas) o de origen antrópico (contaminación y perturbación del hábitat, entre otras). Con este objetivo, la Comisión Nacional del Medio Ambiente, impulsó la realización de un estudio que permita caracterizar la actual dinámica que tiene este importante ecosistema, los efectos que la acción antrópica puedan tener sobre el, y definir las condiciones y medidas ambientales específicas que permitan su recuperación, conservación y protección, planteado a través de un Plan Ambiental.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo General**

Determinar los factores de peligro que condujeron a la muerte de aves, entre ellos el cisne de cuello negro y determinar el estado de salud del ecosistema del Santuario de la Naturaleza Carlos Anwandter, X Región, Valdivia.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- i) Analizar las potenciales fuentes contaminantes directas y difusas que pudiesen estar afectando al Santuario de la Naturaleza Carlos Anwandter (Santuario de aquí en adelante).
- ii) Realizar análisis anatómicos, parasitológicos, microbiológicos, histopatológicos y toxicológicos en el cisne de cuello negro para evaluar si



la mortalidad de esta especie se debe a aspectos de índole sanitarios y/o toxicológicos.

- iii) Evaluar si la mortalidad de cisnes de cuello negro se debe a contaminación de su fuente principal de alimentación, el Luchecillo (*Egeria densa*).
- iv) Determinar el estado ambiental del Santuario, mediante estudios de calidad de agua y sedimentos.
- v) Realizar estudios ecológico-poblacionales del cisne de cuello negro y aves acuáticas, comparándolos con estudios bases ya realizados.

### 3. Contenidos del Segundo Informe de Avance

En este Segundo Informe de Avance del Estudio se analizan cuatro temas:

- i) Análisis anatomopatológicos, histopatológicos y toxicológicos en ejemplares de cisnes de cuello negro recolectados en el Santuario, humedales adyacentes a Valdivia y zona de Puerto Natales (estos estudios son de carácter complementario al Primer Informe de Avance).
- ii) Distribución, cobertura, concentración de químicos y su efecto sobre la estructura anatómica del Luchecillo, *Egeria densa*.
- iii) Biodisponibilidad de metales pesados en aguas del río Cruces.
- iv) Estudios de calidad de sedimentos del río Cruces y humedales adyacentes.

**4. Análisis anatomopatológicos, histopatológicos y toxicológicos en ejemplares de cisnes de cuello negro recolectados en el Santuario, humedales adyacentes a Valdivia y zona de Puerto Natales (estos estudios son de carácter complementario al Primer Informe de Avance).**

Entre el 20 de Diciembre de 2004 y el 15 de Enero de 2005, se remitieron a los laboratorios del Instituto de Patología Animal de la Universidad Austral de Chile, 10 cisnes de cuello negro provenientes de distintos sectores del Santuario, con la finalidad de realizar exámenes para determinar posible (s) causa (s) de muerte. Los cisnes recibidos correspondieron 5 hembras y 5 machos, de los cuales 9 eran adultos y otro, un juvenil.

Seis de los cisnes recibidos se encontraban muertos y cuatro vivos. A estas aves se les realizó examen clínico y se efectuaron necropsias, obteniéndose muestras para diferentes tipos de análisis. Como parte de la investigación, se analizaron también cuatro cisnes de cuello negro provenientes de Puerto Natales (remitidos por el SAG), lo cual permitió realizar exámenes comparativos, en relación con la condición corporal general, estado de nutrición, hallazgos toxicológicos e histopatológicos.

En la Tabla siguiente se señalan los exámenes realizados a esos cisnes, los cuales complementan los resultados entregados en el Primer Informe de Avance de este estudio. La importancia de estos nuevos exámenes, radica en que al poder contar, en esta parte del estudio, con ejemplares provenientes de Puerto Natales es posible analizar las condiciones de ejemplares provenientes de otros lugares.

Durante esta etapa del estudio, no se realizaron análisis microbiológicos en las aves, ya que a la fecha, los exámenes en curso de las muestras obtenidas anteriormente, han sido negativos.

|   |  |
|---|--|
| • Estudio anatomopatológico: realización de necropsia                 | Laboratorio de Patología Aviar, Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias                 |
| • Examen histopatológico  | Laboratorio de Anatomía Patológica, Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias             |
| • Examen parasitológico   | Laboratorio de Parasitología, Instituto de Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias                   |
| • Examen micológico   | Laboratorio de Micología, Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias                                       |
| • Análisis de muestras de sangre (hematología y bioquímica sanguínea) | Laboratorio de Patología Clínica, Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias |

De aquellas aves que se encontraban en estado de franca descomposición (2), no se obtuvieron muestras para examen histopatológico, sólo toxicológico (hígado y riñón) y parasitológico (estómagos, intestinos, cloaca y plumas).

#### 4.1. Antecedentes generales

En la Tabla 1 se presenta la información de las características y procedencia de las aves muestreadas:

Tabla 1. Cisnes de cuello negro examinados según procedencia, fecha de examen, sexo, edad y condiciones en que fueron recibidos.

| Nº | Procedencia    | Fecha    | Sexo/edad      | Condición | Observaciones                |
|----|----------------|----------|----------------|-----------|------------------------------|
| 32 | Santuario      | 20.12.04 | Hembra juvenil | Vivo      | Debilidad, postración        |
| 33 | Santuario      | 20.12.04 | Hembra adulta  | Vivo      | Fractura de ala              |
| 34 | Santuario      | 20.12.04 | Hembra adulta  | Vivo      | Debilidad, postración        |
| 35 | Piedra Blanca  | 20.12.04 | Hembra adulta  | Muerto    | Politraumatismo              |
| 36 | Santuario      | 26.12.04 | Hembra adulta  | Muerto    | Fracturas, descomposición    |
| 37 | Santuario      | 26.12.04 | Macho adulto   | Muerto    | Fracturas, descomposición    |
| 38 | Santuario      | 29.12.04 | Macho adulto   | Muerto    | Descomposición               |
| 39 | Santuario      | 30.12.04 | Macho juvenil  | Muerto    | Muere en cautiverio          |
| 40 | Boca Cau Cau   | 05.01.05 | Macho adulto   | Muerto    | Debilidad previa a la muerte |
| 41 | Cayumapu       | 15.01.05 | Macho adulto   | Vivo      | Fractura de ala              |
| 3  | Puerto Natales | 13.01.05 | Hembra juvenil | Vivo      | <b>Control</b>               |
| 4  | Puerto Natales | 13.01.05 | Hembra adulta  | Vivo      | <b>Control</b>               |
| 5  | Puerto Natales | 15.01.05 | Hembra adulta  | Vivo      | <b>Control</b>               |
| 6  | Puerto Natales | 15.01.05 | Macho adulto   | Vivo      | <b>Control</b>               |

En la Tabla 2, se presenta la distribución de los cisnes examinados según sexo, edad relativa y peso (kg).

Tabla 2. Distribución de cisnes de cuello negro según sexo, edad relativa y peso (kg).

| Nº | Sexo           | edad            | Peso (kg)  |
|----|----------------|-----------------|------------|
| 32 | Hembra         | Juvenil         | 2,7        |
| 33 | Hembra         | Adulta          | 2,8        |
| 34 | Hembra         | Adulta          | 3,1        |
| 35 | Hembra         | Adulta          | 3,3        |
| 36 | Hembra         | Adulta          | 3,5        |
| 37 | Macho          | Adulto          | 5,0        |
| 38 | Macho          | Adulto          | 5,5        |
| 39 | Macho          | Juvenil         | 3,1        |
| 40 | Macho          | Adulto          | 3,8        |
| 41 | Macho          | Adulto          | 5,1        |
| 3  | Hembra Control | Juvenil         | 3,2        |
| 4  | Hembra Control | Adulta          | 4,0        |
| 5  | Hembra Control | Adulta          | 5,0        |
| 6  | Macho Control  | Adulto          | 4,1        |
|    |                | <b>Promedio</b> | <b>3,9</b> |

Del análisis de la Tabla 2, llama la atención el bajo peso de la mayoría de las aves, incluidos los controles, el cual fluctuó entre 2,7 y 5,5 kg, con un promedio de 3,9 kg en la muestra analizada.

## 4.2. Examen anatomopatológico

### 4.2.1. Examen macroscópico

A continuación, se presentan los principales hallazgos macroscópicos en las aves estudiadas.

| Hallazgos macroscópicos                        | Número de cisnes / total | Porcentaje |
|--|--------------------------|------------|
| Gastritis parasitaria                          | 10/10                    | 100%       |
| Estómago sin alimento y con abundante arenilla | 10/10                    | 100%       |
| Emaciación                                     | 7/10                     | 70%        |
| Traumatismos                                   | 5/10                     | 50%        |
| Aspergilosis                                   | 2/10                     | 20%        |
| Hidropericardio                                | 2/10                     | 20%        |

Los hallazgos más significativos de necropsia lo constituyeron cuadros de gastritis parasitaria (100%), emaciación (70%) y traumatismos (50%). Por otra parte, llama la atención que en todos los estómagos no se encontrara alimento,

sino que solo abundante arenilla, situación que se repitió en los controles, atribuible en estos últimos cisnes a un largo ayuno por el transporte. Del mismo modo, en todos los controles se encontró gastritis parasitaria. La presentación de aspergilosis en dos aves, corresponde en un caso a un cisne internado en el Hospital Veterinario de la UACH y alimentado con Luchecillo; el otro caso es de un ave recolectada por guardafaunas de CONAF en la boca del río Cau-Cau y que presentaba signos de debilidad extrema, muriendo poco después de la captura.

#### **4.2.2. Examen microscópico**

El examen microscópico consideró los siguientes órganos: hígado, riñón, bazo, encéfalo, estómago glandular y muscular, duodeno, páncreas y corazón.

Para el examen histopatológico, las muestras obtenidas de los diferentes tejidos (previamente fijados en formalina tamponada al 10%), fueron laminadas y procesadas en autotécnico para ser deshidratadas e impregnadas en parafina. Finalmente, esas muestras fueron incluidas en parafina sólida, cortadas mediante micrótopo a 5-6  $\mu\text{m}$  de grosor y teñidas con Hematoxilina-Eosina, para ser analizadas por observación microscópica. Por otra parte, algunas muestras se realizaron con tinción de Perl para la identificación específica de Hierro en los tejidos.

A continuación se presentan los resultados correspondientes a las principales lesiones microscópicas observadas en los distintos órganos estudiados en ocho cisnes del Santuario y humedales adyacentes (no se tomaron muestras en dos aves en descomposición).

| <b>Organo / Tipo de lesión</b>             | <b>N° afectados / total<br/>analizado</b> | <b>%</b> |
|--|---|----------|
| Hígado                                     |   |          |
| Infiltrado inflamatorio                    | 8/8                                       | 100      |
| Acumulación de macrófagos con hemosiderina | 8/8                                       | 100      |
| Presencia de pigmentos                     | 8/8                                       | 100      |
| Anisocitosis                               | 8/8                                       | 100      |
| Riñón                                      |   |          |
| Tubulonefrosis                             | 8/8                                       | 100      |
| Presencia de pigmentos                     | 5/8                                       | 62.5     |
| Cerebro                                    |   |          |
| Proliferación de células gliales           | 8/8                                       | 100      |

En relación con las lesiones hepáticas, el hallazgo más significativo lo constituyó el infiltrado inflamatorio, acumulación de macrófagos con hemosiderina y la presencia de pigmentos en los hepatocitos (todos con 100%). Se debe destacar que un 50% de los cisnes provenientes de Puerto Natales presentaron inflamación y acumulación de macrófagos, un 75% pigmentos y un 100% anisocitosis.

Las lesiones renales se relacionaron principalmente con trastornos degenerativos leves, cabe destacar que el 62,5% de los riñones presentó pigmentos a nivel de los epitelios tubulares. Las aves de Puerto Natales presentaron un 100% de tubulonefrosis leve, sin evidencia de pigmentos en células tubulares.

El cerebro evidenció proliferación de células gliales, hallazgo presente en el 100% de los cerebros examinados, observación que se repite en similar porcentaje en las aves provenientes del sur del país.

En la Tabla 3, se presentan los grados de severidad de los hallazgos en los órganos examinados.

Tabla 3. Clasificación según severidad de hallazgos microscópicos en hígado, riñón y cerebro de cisnes del Santuario y humedales adyacentes.

| Organo / Hallazgo                          | Grado |          |         |
|--|-------|----------|---------|
|  | leve  | moderado | marcado |
| <b>Hígado</b>                              |       |          |         |
| Infiltrado inflamatorio                    | 3     | 5        | 0       |
| Acumulación de macrófagos con hemosiderina | 4     | 2        | 2       |
| Presencia de pigmentos                     | 0     | 5        | 3       |
| <b>Riñón</b>                               |       |          |         |
| Tubulonefrosis                             | 8     | 0        | 0       |
| Presencia de pigmentos                     | 3     | 2        | 0       |
| <b>Cerebro</b>                             |       |          |         |
| Proliferación de células gliales           | 8     | 0        | 0       |

De la presente Tabla, llama la atención la presencia de pigmento en las células hepáticas, que de acuerdo a la clasificación realizada fue principalmente de grado moderado a marcado.

En la Tabla 4, se presentan los grados de severidad de los hallazgos en los órganos examinados de las aves provenientes de Puerto Natales (aves controles).

Tabla 4. Clasificación según severidad de hallazgos microscópicos en hígado, riñón y cerebro en aves controles.

| Organo / Hallazgo                          | Sin lesión | Grado |          |         |
|--|------------|-------|----------|---------|
|  |            | Leve  | Moderado | Marcado |
| <b>Hígado</b>                              |            |       |          |         |
| Infiltrado inflamatorio                    | 2          | 1     | 1        | 0       |
| Acumulación de macrófagos con hemosiderina | ---        | 4     | 0        | 0       |
| Presencia de pigmentos                     | 1          | 3     | 0        | 0       |
| <b>Riñón</b>                               |            |       |          |         |
| Tubulonefrosis                             | ---        | 4     | 0        | 0       |
| Presencia de pigmentos                     | 4          | 0     | 0        | 0       |
| <b>Cerebro</b>                             |            |       |          |         |
| Proliferación de células gliales           | ---        | 4     | 0        | 0       |

Al comparar las lesiones microscópicas hepáticas en ambos grupos de aves, se observa que en todas las aves del Santuario y humedales adyacentes se presentó inflamación, la cual fue de grado moderado en un 62,5% de las aves. Por

el contrario, en las aves controles solo el 50% presento inflamación, siendo un 25% de carácter moderado. Del mismo modo, la acumulación de macrófagos con hemosiderina se presentó tanto en las aves del Santuario como en las controles; sin embargo, en las primeras aves, el grado del hallazgo fue considerablemente mayor. Con relación a la presencia de pigmentos en el interior de los hepatocitos, todas las aves del Santuario y humedales adyacentes lo presentaron y en grados moderado y marcado. Tres de las aves controles presentaron dicho pigmento en grado leve.

Con relación a la tubulonefrosis, se debe destacar que este hallazgo se presentó en grado leve en todas las aves estudiadas, tanto del Santuario como controles. Por otra parte, la presencia de pigmentos en células epiteliales tubulares renales se observó solamente en las primeras (Santuario y humedales adyacentes).

Con respecto a la proliferación de células gliales cerebrales, esta se presentó en grado leve en todas las aves, tanto del Santuario como de Puerto Natales.

Los datos de la Tabla 5 muestran que el 100% de los hígados y el 80% de los riñones obtenidos de aves del Santuario y humedales adyacentes presentaron positividad a la tinción de Perl, demostrando acúmulo de hierro en dichos órganos. Por otra parte, en tejidos de los cisnes provenientes de Puerto Natales o controles, el 25% de los hígados y el 50 % de los riñones dieron positividad a la tinción de Perl. El cerebro dio negatividad a la presencia de hierro en ambos grupos.

Tabla 5. Resultados de análisis con tinción especial para determinar Hierro.

| Órgano  | Tinción de Perl (para Fe)          |     |                                    |    |
|---------|------------------------------------|-----|------------------------------------|----|
|         | Aves del Santuario                 |     | Aves Controles                     |    |
|         | Muestras (+) /<br>Total analizadas | %   | Muestras (+) /<br>Total analizadas | %  |
| Hígado  | 5/5                                | 100 | 1/4                                | 25 |
| Riñón   | 4/5                                | 80  | 2/4                                | 50 |
| Cerebro | 0/2                                | 0   | 0/1                                | 0  |



Al comparar la intensidad de la tinción de Perl y la localización de los pigmentos en los hígados examinados, se observa una marcada diferencia entre las del Santuario y humedales adyacentes versus aquellas provenientes de Puerto Natales o controles a nivel de hepatocitos. Sin embargo, a nivel de macrófagos con hemosiderina esta diferencia es menor (Tabla 6).

Tabla 6. Localización y graduación de pigmentos férricos en hígados de cisnes del Santuario y humedales adyacentes *versus* cisnes controles.

| Cisne Nº  | Hepatocitos | Macrófagos |
|-----------|-------------|------------|
| 32        | XX          | X          |
| 33        | XX          | XX         |
| 34        | XXX         | XXX        |
| 35        | XXX         | XXX        |
| 41        | XX          | XX         |
| 3 Control | NEG         | X          |
| 4 Control | X           | X          |
| 5 Control | NEG         | X          |
| 6 Control | NEG         | XX         |

Graduación de hallazgos: x=leve, xx=moderado, xxx=marcado. Neg=negativo

### 4.3. Examen parasitológico

En proceso.

### 4.4. Examen micológico

En el cisne 39 (mantenido en observación en el Hospital Veterinario de la UACH) se diagnosticó Aspergilosis pulmonar y del estómago muscular, mientras que en el cisne 40 (boca del Cau Cau, con depresión previa a la muerte) se diagnosticó Aspergilosis sistémica, con compromiso pulmonar, renal, intestinal y del estómago muscular. En ambos casos se aisló *Aspergillus fumigatus*.

### 4.5. Examen de bioquímica clínica

Se remitieron muestras de suero provenientes de nueve cisnes vivos al Laboratorio de Patología Clínica del Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias de la UACH, a fin de determinar la actividad enzimática de Aspartato Amino Transferasa (AST), Alanin Amino Transferasa (ALT), Fosfatasa Alcalina (SAP), Gamma Glutamil

Transpeptidasa (GGT) y Creatinquinasa (CK). Se procedió a recolectar 5 ml de sangre de cada animal para obtener el suero. Los resultados de los análisis se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Actividad de AST, ALT, SAP, GGT Y CK en muestras de suero de cinco cisnes del Santuario y humedales adyacentes y de cuatro cisnes controles.

| Cisne N°  | Actividad enzimática  |                       |                         |                     |                      |
|-----------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|
|           | AST (U/L)<br>VR 0-116 | ALT (U/L)<br>VR 11-75 | SAP (U/L)<br>VR 180-930 | GGT (U/L)<br>VR 0-4 | CK (U/L)<br>VR 0-444 |
| 32        | 132                   | 35                    | 27                      | 2                   | 1515                 |
| 33        | 24                    | 24                    | 50                      | 0                   | 446                  |
| 34        | 62                    | 48                    | 11                      | 2                   | 1555                 |
| 39        | 132                   | 40                    | 132                     | 7                   | 1445                 |
| 41        | 109                   | 28                    | 101                     | 3                   | 2219                 |
| 3 Control | 28                    | 79                    | 196                     | 2                   | 798                  |
| 4 Control | 36                    | 85                    | 155                     | 1                   | 1978                 |
| 5 Control | 104                   | 72                    | 489                     | 6                   | 5221                 |
| 6 Control | 108                   | 79                    | 193                     | 2                   | 2152                 |

Se observa un aumento significativo de la actividad de Creatinquinasa (CK) en todos los sueros, tanto de las aves del Santuario y humedales adyacentes, como de las aves controles. Es posible que las condiciones de captura y transporte hayan sido las responsables del incremento de CK en los sueros examinados.

#### 4.7. Contenidos de metales pesados

Las concentraciones de metales pesados en los hígados y riñones de los cisnes del Santuario y humedales adyacentes analizados para este informe se presentan en las Tablas 8 y 9. En estas tablas se incluyen además las concentraciones de estos elementos en tejidos de cuatro cisnes recolectados vivos en Puerto Natales y que son considerados como individuos controles. A diferencia de los análisis desarrollados para el Primer Informe de Avance, no se realizaron para este, análisis de concentraciones de Arsénico, Mercurio y Plomo, debido a las bajas concentraciones de estos metales, registradas anteriormente.

Se compararon las concentraciones de esos metales entre cisnes del Santuario y humedales adyacentes y las encontradas en los tejidos de los cisnes control. El total de cisnes analizados para este informe es de 47, de los cuales 41 corresponden a

individuos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes durante el año 2004 y 2005, y seis corresponden a individuos control (cuatro provenientes de Puerto Natales y dos del Santuario y recolectados durante el año 2002).

De los cuatro metales pesados mencionados anteriormente (Cobre, Hierro, Manganeso y Zinc), sólo el Hierro presentó diferencias significativas ( $F=15.96$  y  $P=0.0003$ ) entre cisnes del Santuario y humedales adyacentes y cisnes control, con valores promedios de 15429.92 mg / kg y 4814.83 mg / kg peso seco, respectivamente. Esos promedios corresponden a diferencias de aproximadamente tres órdenes de magnitud entre ambos grupos de cisnes.

Para el caso de los riñones, se compararon las concentraciones de los metales pesados Cadmio, Cobre, Hierro y Zinc. Las concentraciones promedios de estos elementos para los cisnes provenientes del Santuario y humedales adyacentes fueron 13.48, 18.95, 1239.47 y 105.89 mg / kg peso seco, para Cadmio, Cobre, Hierro y Zinc, respectivamente. Para los cisnes control tales promedios fueron 17.95, 16.54, 955.00 y 105.84 mg / kg peso seco, respectivamente. Los análisis de varianza mostraron que no hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre las concentraciones promedios de estos metales al comparar cisnes del Santuario y humedales adyacentes con cisnes controles.

Tabla 8. Concentración de metales pesados en hígados de cisnes. Todos los valores están expresados en mg / kg de peso seco. Los cisnes controles 3 a 6 corresponden a especímenes provenientes de Puerto Natales. SD = sin datos por pérdida de muestras.

| N° Cisne  | Cadmio | Cromo  | Cobre  | Hierro   | Manganeso | Niquel | Zinc   |
|-----------|--------|--------|--------|----------|-----------|--------|--------|
| Cisne 32  | 1.79   | < 0.50 | 221.75 | 13885.00 | 12.53     | < 0.50 | 212.41 |
| Cisne 33  | 2.43   | < 0.50 | 100.37 | 7630.00  | 17.81     | < 0.50 | 352.22 |
| Cisne 34  | 3.50   | < 0.50 | 50.60  | 18698.00 | 11.28     | < 0.50 | 105.07 |
| Cisne 35  | 0.51   | < 0.50 | 43.34  | 7616.00  | 5.85      | < 0.50 | 65.70  |
| Cisne 36  | 5.92   | < 0.50 | 22.32  | 22222.00 | 22.15     | < 0.50 | 157.11 |
| Cisne 37  | SD     | SD     | SD     | SD       | SD        | SD     | SD     |
| Cisne 38  | 2.07   | < 0.50 | 34.02  | 21108.00 | 12.51     | < 0.50 | 69.05  |
| Cisne 39  | 1.80   | < 0.50 | 18.85  | 16151.00 | 11.49     | < 0.50 | 343.85 |
| Cisne 40  | 3.33   | < 0.50 | 43.50  | 8500.00  | 6.07      | 2.04   | 295.63 |
| Cisne 41  | 1.84   | < 0.50 | 119.81 | 7556.00  | 6.00      | < 0.50 | 86.41  |
| Control 3 | 7.52   | < 0.50 | 116.91 | 5270.00  | 13.98     | < 0.50 | 336.70 |
| Control 4 | 9.72   | < 0.50 | 56.11  | 6959.00  | 15.57     | < 0.50 | 255.40 |
| Control 5 | 4.74   | < 0.50 | 108.26 | 5351.00  | 16.42     | 1.28   | 322.86 |
| Control 6 | 9.54   | < 0.50 | 147.53 | 5368.00  | 12.51     | < 0.50 | 357.21 |

Tabla 9. Concentración de metales pesados en riñones de cisnes. Todos los valores están expresados en mg / kg de peso seco. Los cisnes controles 3 a 6 corresponden a especímenes provenientes de Puerto Natales. SD = sin datos por pérdida de muestras.

| <b>N° Cisne</b> | <b>Cadmio</b> | <b>Cromo</b> | <b>Cobre</b> | <b>Hierro</b> | <b>Manganeso</b> | <b>Niquel</b> | <b>Zinc</b> |
|-----------------|---------------|--------------|--------------|---------------|------------------|---------------|-------------|
| Cisne 32        | 4.75          | < 0.50       | 3.89         | 1608.00       | 13.07            | < 0.50        | 99.47       |
| Cisne 33        | 6.93          | 0.50         | 24.81        | 555.00        | 13.71            | 0.62          | 170.00      |
| Cisne 34        | 37.60         | < 0.50       | 17.27        | 1429.00       | 12.49            | 1.22          | 157.93      |
| Cisne 35        | 17.13         | < 0.50       | 3.22         | 1294.00       | 13.00            | < 0.50        | 98.59       |
| Cisne 36        | 38.37         | < 0.50       | 23.03        | 1132.00       | 8.43             | 0.62          | 141.22      |
| Cisne 37        | SD            | SD           | SD           | SD            | SD               | SD            | SD          |
| Cisne 38        | 18.63         | < 0.50       | 5.93         | 1113.00       | 29.91            | < 0.50        | 107.27      |
| Cisne 39        | 7.32          | < 0.50       | 27.19        | 1268.00       | 7.44             | 2.77          | 385.51      |
| Cisne 40        | 27.05         | < 0.50       | 15.71        | 1169.00       | 8.65             | < 0.50        | 180.86      |
| Cisne 41        | 31.76         | < 0.50       | 12.09        | 1765.00       | 11.50            | < 0.50        | 118.98      |
| Control 3       | 20.81         | < 0.50       | 12.14        | 718.00        | 7.99             | < 0.50        | 150.06      |
| Control 4       | 44.94         | < 0.50       | 10.15        | 901.00        | 8.46             | 0.57          | 129.69      |
| Control 5       | 8.76          | < 0.50       | 8.28         | 862.00        | 10.10            | < 0.50        | 107.24      |
| Control 6       | 28.47         | < 0.50       | 12.15        | 834.00        | 10.83            | 0.65          | 154.17      |

#### 4.8. Conclusiones

El hecho de analizar un mayor número de cisnes de cuello negro al primariamente previsto y sobre todo de áreas fuera del Santuario, ha permitido corroborar lo expuesto en el Primer Informe de Avance, en el sentido que:

- i) La mayoría de las aves presentaban un severo cuadro de emaciación (pérdida de peso), indicativo de carencias en la alimentación, producto de la drástica disminución en la distribución y cobertura espacial del Luchecillo en el Santuario y humedales adyacentes (ver punto 5 de este Informe).
- ii) Todos los cisnes presentaban gastritis parasitaria.
- iii) Dos cisnes del Santuario presentaban Aspergilosis, cuadro producido por el hongo oportunista *Aspergillus fumigatus*, lo que indicaría inmunosupresión secundaria al mal estado nutricional.
- iv) En los hepatocitos de los cisnes del Santuario se encontró abundante presencia de Hierro, lo que según la literatura se relaciona a una alta absorción de este metal a nivel intestinal.

Los análisis toxicológicos llevados a cabo en plantas de Luchecillo recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes, muestran altas concentraciones de metales pesados (principalmente Hierro) en las mismas (ver punto 5 de este Informe). Estos resultados y la revisión bibliográfica realizada, permiten relacionar las altas concentraciones de Hierro en hígados de los cisnes de cuello negro del área, con las altas concentraciones de este metal en el Luchecillo, el ítem alimentario de mayor importancia en estas aves.

## **5. Distribución, cobertura, concentración de químicos y su efecto sobre la estructura anatómica del Luchecillo, *Egeria densa***

### **5.1. Origen e historia natural de *Egeria densa***

#### **5.1.1. Posición taxonómica**

*Egeria densa* es una planta superior, con flores (Angiosperma), perteneciente a la Clase Monocotiledóneas (Liliopsida) y a la Familia Hydrocharitaceae, esta última formada casi exclusivamente por plantas acuáticas (Cook 1998). Es decir, *Egeria densa* es un hidrófito o planta acuática ("waterweed", en inglés) y no un alga, como se cree comúnmente (Ramírez et al. 1982). Quizás esta confusión se deba al nombre común de "Luchecillo", que por supuesto recuerda a las algas llamadas "luche" o "luchi", que efectivamente son algas y que pertenecen al Reino Protistas (Alveal et al. 1990). El Luchecillo en cambio, pertenece al Reino Vegetal; es decir, corresponde a una planta cuyo cuerpo vegetativo consta de raíz, tallo y hojas (cormo) y que además, presenta flores, como cuerpo reproductivo.

#### **5.1.2. Origen fitogeográfico**

*Egeria densa* es una planta introducida (alóctona), originaria del Sur de Brasil y Norte de Argentina (Saint John 1961); es decir, esta especie corresponde más bien a una planta tropical. Su arribo al país ocurrió a comienzos del siglo pasado, cuando su presencia fue detectada en el río Valdivia (Castillo & Dey 1908). Posiblemente su introducción se debió al descuido de un acuarista, que al limpiar su acuario, involuntariamente introdujo algunos trozos de la planta en el río. Desde entonces, se comporta en el sur de Chile como una maleza muy agresiva (Matthei 1995), que invadió los bañados del río Cruces y humedales adyacentes formados por los hundimientos de terreno durante el terremoto de 1960 (Watanabe & Karzulovic 1960). Hasta hace poco, en determinados lugares del Santuario, *Egeria densa* cubría grandes extensiones lo que afectaba en forma significativa la navegación de los lugareños del área (Ramírez et al. 1991).

### **5.1.3. Distribución geográfica**

El área principal de distribución geográfica de *Egeria densa* en Chile, corresponde a la cuenca inferior del río Valdivia y ríos adyacentes, entre ellos el Cruces y el Cau-Cau. Además, se ha observado que en humedales de la Región Metropolitana, V, VIII y IX Regiones, el Luchecillo crece en lugares puntuales y con poca cobertura (Ramírez et al. 1976, Ramírez et al. 1986).

### **5.1.4. Descripción morfológica**

*Egeria densa* es una planta acuática herbácea (Fotografía 1), de color verde claro, tallo delgado y cilíndrico, asimilador, frágil, ramificado y tendido, con grandes conductos aeríferos, que rodean un cordón conductor central, muy reducido y no funcional. Su tamaño es muy variable y en condiciones óptimas puede alcanzar hasta 2 m de largo. Este tallo es muy folioso y presenta entrenudos de igual tamaño (Ramírez et al. 1982).

Las raíces son caulógenas (adventicias) fibrosas y nacen agrupadas o solitarias, opuestas a las ramificaciones del tallo. La principal función de ellas es el anclaje de la planta en el sedimento, ya que por su anatomía simplificada la planta absorbe agua y nutrientes (y por supuesto, también contaminantes) por toda su superficie. Esto le confiere una gran capacidad de crecimiento, el que puede llegar a 1 cm diario en días de verano (Rodríguez et al. 1987).

Las hojas son pequeñas, enteras, sésiles, lineares, delgadas, sin estomas ni estípulas, de bordes finamente aserrados y dispuestas en verticilos. Al corte transversal, la lámina foliar está formada por dos hileras de células, las que aumentan a varias, en el nervio medio. Estas hojas son muy simplificadas, careciendo de epidermis y de cutícula (Cook 1998).





Fotografía 1. Planta de Luchecillo recolectada en el río Calle-Calle (ribera del sector Las Animas), Valdivia.

Las flores de *Egeria densa* son unisexuales, es decir, hay flores masculinas y flores femeninas, pero presentes en individuos diferentes (planta dioica), de envoltura floral doble (cáliz y corola) y trímera. Los pétalos, muy vistosos, son de color blanco (Fotografía 2). Las flores sobresalen de la superficie del agua y presentan nectarios, por lo que su polinización es entomófila. En Chile sólo se han encontrado individuos masculinos (Saint John 1967).



Fotografía 2. Planta de Luchecillo con flores masculinas de color blanco.

### 5.1.5. Reproducción y crecimiento

La ausencia en Chile de flores femeninas en *Egeria densa* no permite su reproducción sexual; por consiguiente, las plantas chilenas no forman frutos ni semillas. La planta sin embargo, tiene una extraordinaria capacidad de reproducción vegetativa pudiendo originar nuevos individuos a partir de trozos que flotan a la deriva, cuando estos se fijan en el lugar apropiado por disminución de las corrientes de agua. Estos lugares favorables se presentan generalmente aguas abajo de construcciones humanas o rellenos. Cualquier trozo de tallo con hojas puede generar una nueva planta, que forma raíces adventicias. Este comportamiento reproductivo facilita el cultivo de esta planta en acuarios y la fácil repoblación en lugares donde no se encuentra o haya desaparecido (Hauenstein & Ramírez 1986).

### 5.1.6. Diferenciación de otros Luchecillos chilenos

En el territorio chileno viven tres especies diferentes de Luchecillo: *Egeria densa*, *Elodea canadensis* y *Elodea potamogeton*. *Elodea canadensis*, más abundante en Chile Central, es de origen norteamericano; es una maleza acuática muy agresiva; su nombre común es "peste de aguas". *Elodea potamogeton* es una especie nativa que crece en cuerpos acuáticos del norte y centro de Chile (Palma et al. 1987, Ramírez et al. 1987). *Elodea canadensis*, se vende frecuentemente como planta de acuario. Estas tres especies de Luchecillo tienen carácter de malezas invasoras, por lo que hay que tener cuidado con su comercialización y manejo (Ramírez & Beck 1981, San Martín & Ramírez 1983).

La diferenciación de las tres especies de Luchecillo no es difícil si uno compara las estructuras florales. Sin embargo, como ellas no siempre están presentes (y en el caso de *Egeria densa* nunca se encuentran las femeninas), no son un buen carácter para diferenciarlas. Distinguir entre estas especies en estado vegetativo (es decir, sin flores) es complicado, porque su aspecto es muy parecido, aún cuando *Egeria densa* es una planta muy robusta y las dos especies de *Elodea* son más débiles, lo que se aprecia sólo al compararlas directamente. Quizás la

mejor manera de diferenciarlas sea la de considerar la morfología de los extremos de los tallos. Efectivamente, *Egeria densa* es una planta con entrenudos más cortos, mayor número de verticilos foliares y también, mayor número de hojas (Tabla 10). Estas especies presentan cierta variación en el número de hojas por verticilos, lo que hace difícil determinarlos por este carácter. *Egeria densa* precisamente, presenta una gran variación en el número de hojas por verticilos, predominando los tetra- y penta foliados, mientras que en las dos especies del Género *Elodea*, predominan los verticilos trímeros (Ramírez et al. 1982a).

Tabla 10. Diferencias en el número y la disposición de las hojas de las especies de Luchecillo que crecen en Chile.

| Especie                   | n° de verticilos | n° de hojas | largo de hojas (cm) |
|---------------------------|------------------|-------------|---------------------|
| <i>Elodea canadensis</i>  | 18.6             | 55.0        | 1.15                |
| <i>Elodea potamogeton</i> | 12.6             | 38.4        | 2.40                |
| <i>Egeria densa</i>       | 29.3             | 141.6       | 1.70                |

La clave que se presenta en la Tabla 11 permite diferenciar las especies de Luchecillo que ocurren en Chile.

Tabla 11. Clave para diferenciar las especies de Luchecillo presentes en humedales continentales de Chile.

| Características                                      | especies                  |
|--|---------------------------|
| 1a. Menos del 50% de verticilos foliares trímeros.   | <i>Egeria densa</i>       |
| 1b. Más del 50% de verticilos foliares trímeros..... | 2a o 2b                   |
| 2a. Hojas mayores de 1,5 cm de largo.....            | <i>Elodea potamogeton</i> |
| 2b. Hojas menores de 1,5 cm de largo.....            | <i>Elodea canadensis</i>  |

### 5.1.7. Requerimientos de hábitat

Como planta acuática sumergida y arraigada al sustrato, *Egeria densa* necesita ambientes dulceacuícolas lénticos y someros, con sustratos sedimentarios fangoso y aguas eutrofizadas (Ramírez et al. 1979). Al estar presente en un cuerpo acuático de una región determinada, el Luchecillo puede invadir rápidamente otros cuerpos acuáticos. Después del año 1960, *Egeria densa* invadió rápidamente todos los bañados aledaños al río Cruces, en Valdivia, llegando a impedir la navegación

en determinados sectores. Aunque es planta dulceacuícola puede tolerar aguas salobres (hasta 5 g / l de salinidad) (Hauenstein & Ramírez 1986).

### 5.1.8. Zonación y sucesión

En pequeñas lagunas y bañados, *Egeria densa* puede cubrir todo el cuerpo acuático. En la ribera de cuerpos acuáticos lóticos, más profundos y con corrientes de agua, el Luchecillo forma parte de la zonación litoral de la vegetación (Ramírez et al. 1982). En dirección a la orilla, esta zonación se inicia con una franja de plantas acuáticas sumergidas formada principalmente por *Egeria densa*. Más hacia afuera, se forma una franja de vegetación natante, integrada por plantas acuáticas con hojas que flotan en la superficie. En esta franja son comunes *Ludwigia peploides* (clavito de agua), *Hydrocotyle ranunculoides* (hierba de la plata) y también *Nymphaea alba* (loto). A esta franja le sigue otro cinturón palustre con vegetación emergente de pantano, donde abunda entre otras plantas, *Scirpus californicus* (totora). Este pantano es reemplazado posteriormente por un matorral de *Rubus constrictus* (zarzamora) y *Blechnum chilense* (quil-quil). Las franjas de la zonación ribereña terminan en un bosque pantanoso o hualve, donde dominan *Myrceugenia exsucca* (pitra), *Blepharocalyx cruckshanksii* (temo) y *Drimys winter* (canelo) (San Martín et al. 1999). En el esquema de la Figura 1 se muestran estas franjas de vegetación, en un mismo lugar pero en diferentes fechas.

Esta zonación litoral, avanza lentamente hacia el centro del agua, en un proceso llamado sucesión. Este proceso transcurre en el tiempo de la siguiente manera: la franja de *Egeria densa* comienza a atrapar sedimento con el cual va rellenando el fondo, a este relleno contribuyen también los restos de plantas muertas de Luchecillo. Este relleno tiene como consecuencia un cambio en las condiciones del hábitat ya que, con el aumento de los procesos de sedimentación, disminuye la profundidad del agua, condición que *Egeria densa* no soporta. Estas nuevas condiciones son aptas para el desarrollo de las especies natantes, que ahora avanzan y colonizan el sitio ocupado por *Egeria densa*, la que se ve obligada

a avanzar hacia el agua (Ramírez et al. 1982). En el mismo esquema de la Figura 1 se puede apreciar este proceso de sucesión, donde se observan las diferentes zonaciones (desde la parte superior a inferior de la figura). Se representa un mismo lugar pero en diferentes fechas, siendo la zonación superior más antigua y la inferior más reciente, a la vez que la del medio de la figura ocupa una posición intermedia en el tiempo. Se aprecia como desde la zonación más antigua a la más reciente, todas las franjas se van desplazando hacia el centro del cuerpo acuático.

Este proceso de sucesión hace que toda la zonación litoral se mueva hacia el centro del cuerpo acuático que terminará por ser colmatado o rellenado (Ramírez et al. 2005). En los cauces de los ríos, esta sucesión natural es frenada por la profundidad del cauce y la corriente de agua que impiden el avance de la franja de vegetación sumergida. De acuerdo a lo anterior, el proceso de sucesión que es muy dinámico, desplaza de lugar a *Egeria densa*, la que de esta manera, también puede ser eliminada naturalmente desde cualquier lugar.

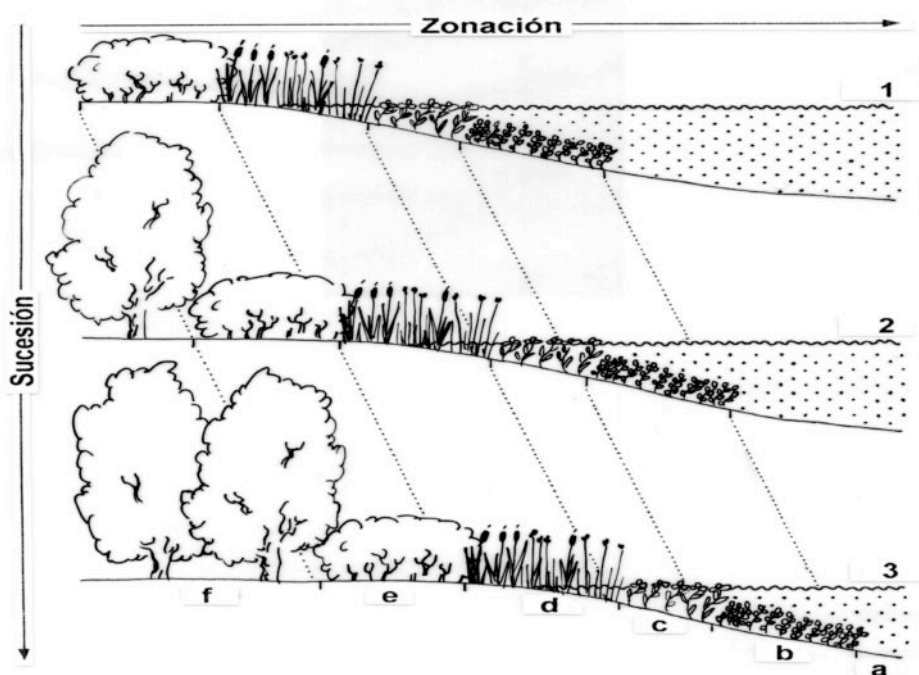


Figura 1. Esquema de zonación y sucesión de plantas litorales en un ambiente dulceacuícola del sur de Chile. 1, 2 y 3 corresponden al mismo lugar pero el primero es más antiguo y el 3 más reciente. Al observar la figura en forma horizontal se aprecia la zonación; al observarla en forma vertical (de arriba hacia abajo) se aprecian los cambios provocados por la sucesión.

### 5.1.9. Utilidad

*Egeria densa* es una planta que participa como productor primario en los ambientes dulceacuícolas, sirviendo de alimento a varias especies de aves, entre ellas el Cisne de cuello negro (Schlatter et al. 1991). Como planta colonizadora que inicia la sucesión, el Luchecillo ayuda a la recuperación de cuerpos acuáticos lénticos. *Egeria densa* es capaz de retener grandes cantidades de sedimento; de aquí que al desaparecer, el fondo del cuerpo acuático queda sin protección y el sedimento es resuspendido, provocando un enturbiamiento del agua. Su crecimiento es bastante acelerado y permite utilizarla como objeto de experimentación (Hauenstein & Troncoso, 1984).

### 5.1.10. Comunidad vegetal

*Egeria densa* forma una comunidad acuática sumergida que fue descrita por Steubing et al. (1980) como la asociación *Egerietum densum*. Un detalle de la estructura de esta comunidad vegetal se encuentra en San Martín et al. (1993). Se trata de una comunidad acuática sumergida de alta cobertura, que ocupa aguas someras con sustrato fangoso, en ambientes de escasa corriente. Es una asociación pobre en especies ya que la tabla fitosociológica está formada sólo por 13 especies, de las cuales la dominante es *Egeria densa* (Tabla 12). Con una menor importancia pero siempre presente aparece en ella *Potamogeton berteroanus* (huiró rojo). El desarrollo óptimo de esta asociación vegetal se presenta en ambientes con profundidades de hasta 1 m en marea baja. En las zonas más altas de la ribera, las plantas de esta asociación quedan expuestas a la desecación durante la baja marea lo que en ocasiones genera la muerte de sus poblaciones (Ramírez & San Martín 1977).

Tabla 12. Estructura florística de *Egerietum densum* (según San Martín et al. 1993). Los números superiores de las columnas corresponden a censos y los otros son porcentajes de cobertura (+ = < 1%).

| Especies                        | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 |
|---------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| <i>Egeria densa</i>             | 90 | 95 | 90 | 99 | 90 | 90 | 95 | 99 | 99 | 99 | 99 | 90 |
| <i>Potamogeton berterouanus</i> | 5  | .  | 5  | .  | .  | .  | +  | .  | +  | +  | .  | .  |
| <i>Zygnema</i> sp.              | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | 10 | .  | 5  | +  |
| <i>Potamogeton lucens</i>       | +  | 5  | .  | .  | .  | .  | 5  | .  | .  | .  | .  | .  |
| <i>Utricula gibba</i>           | +  | .  | .  | +  | +  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  |
| <i>Elatine triandra</i>         | +  | .  | +  | +  | +  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i>   | +  | .  | 5  | +  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  |
| <i>Scirpus californicus</i>     | .  | +  | .  | .  | .  | .  | .  | +  | .  | .  | .  | .  |
| <i>Mougeotia</i> sp.            | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | +  |
| <i>Elodea canadensis</i>        | .  | .  | .  | +  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  |
| <i>Eleocharis pachycarpa</i>    | .  | .  | .  | .  | +  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  |
| <i>Juncus microcephalus</i>     | .  | .  | .  | .  | .  | +  | .  | .  | .  | .  | .  | .  |
| <i>Potamogeton linguatus</i>    | .  | .  | .  | .  | .  | +  | .  | .  | .  | .  | .  | .  |

## 5.2. Distribución espacial en el pasado y cobertura actual de *Egeria densa* en el Santuario y humedales adyacentes

### 5.2.1. Distribución espacial en el pasado

En el pasado, la comunidad de Luchecillo ocupaba aproximadamente 23 km<sup>2</sup> dentro del Santuario, superando en extensión incluso a los pantanos de totora (*Scirpus californicus*, 6,7 km<sup>2</sup>). Debido a su alto contenido de agua, la biomasa de esta planta alcanzaba a 131 g/m<sup>2</sup>. Es decir, la biomasa total de *Egeria densa* en el Santuario era aproximadamente 3.013.000 kilos de peso seco (San Martín et al. 2000). La gran cobertura del Luchecillo impedía la navegación, tanto de embarcaciones a motor como a remos. Por lo tanto, los lugareños tenían que trazar canales entre la cobertura de esta planta para poder navegar. Hoy en día, *Egeria densa* prácticamente ha desaparecido del Santuario y humedales adyacentes, fenómeno que ocurrió probablemente en un lapso de aproximadamente 6 meses. A modo de ejemplo, se muestra en la Fotografía 3 un sector del río Pichoy (en el sector de Tralcao antes de llegar al río Cruces), antes y después de la desaparición del Luchecillo durante el año 2004.



Fotografía 3. Sector del río Pichoy en Tralcao: a la izquierda, praderas de Luchecillo durante el año 1996; a la derecha, situación actual durante Enero del 2005.

## 5.2.2. Distribución espacial y cobertura actual

### 5.2.2.1. Recolección y análisis de muestras

En el estado en que se encuentran actualmente las poblaciones de Luchecillo en el Santuario, no es posible realizar inventarios fitosociológicos, ni muestreos de biomasa (cf. Hauenstein 1981). Para realizar estos últimos se utilizan tarros sin fondo, los que al ser enterrados en el fango y sobresalir de la superficie del fondo, impiden que la corriente dispersen las plantas recolectadas. Actualmente, aquellos bañados del Santuario que contenían enormes extensiones de *Egeria densa* que llegaban a la superficie del agua, se presentan con un agua muy turbia producto en parte de la resuspensión del sedimento. Los pocos ejemplares de plantas que se encuentran se ubican a más de 1 m de profundidad.

En los muestreos realizados, para analizar la situación actual del Luchecillo, se utilizaron largos ganchos de madera, con los cuales se rastreó el fondo. Por lo tanto, el tamaño de la muestra depende de la cobertura que presente el vegetal en cada sitio de estudio. No es posible así, determinar biomasa por unidad de



superficie y mucho menos densidad, ya que en el Luchecillo es difícil la delimitación de individuos.

Para evaluar el estado actual de *Egeria densa* y las características de los sedimentos (ver Capítulo 7 de este Informe) donde se asienta, se realizaron dos muestreos: uno el 24 de Noviembre y otro el 22 de Diciembre del 2004. Durante el primer muestreo se visitaron seis estaciones ubicadas dentro del Santuario y una localizada fuera de este (Figura 2).

La cobertura espacial de los muestreos fue mayor durante el segundo de los mismos ya que se visitaron 24 sitios ubicados dentro del Santuario y dos fuera de este (Figura 3). Las coordenadas de las estaciones durante cada uno de los muestreos se muestran en las Tablas 13 (24 de Noviembre) y 14 (22 de Diciembre).

Tabla 13. Coordenadas en sistema sexagesimal y UTM de las estaciones de muestreo visitadas el 24 de Noviembre del 2004 (grilla de referencia de conversión en UTM: 184 x b4533604584). Los números entre paréntesis se refieren a aquellos de la Figura 2.

| Estaciones            | Sexagesimal   |                | UTM      |          |
|-----------------------|---------------|----------------|----------|----------|
| Fuerte San Luis 1 (1) | 39°36'34.4''S | 073°09'06.4''W | 5604353N | 0657102E |
| Cayumapu 1 (2)        | 39°44'40.1''S | 073°08'44.8''W | 5587949N | 0649063E |
| Frente San Ramón (3)  | 39°43'93.1''S | 073°15'63.7''W | 5573726N | 0634333E |
| San Ramón 1 (4)       | 39°44'22.7''S | 073°16'03.1''W | 5593343N | 0647669E |
| Punucapa 1 (5)        | 39°45'66.1''S | 073°15'59.5''W | 5578333N | 0635412E |
| Punucapa 2 (6)        | 39°45'43.9''S | 073°15'65.9''W | 5585205N | 0634012E |
| Río Calle Calle 1 (7) | 39°49'13.0''S | 073°13'64.3''W | 5587275N | 0637282E |

Tabla 14. Coordenadas en sistema sexagesimal y UTM de las estaciones de muestreo visitadas el 22 de Diciembre del 2004 (grilla de referencia de conversión en UTM: 184 x b4533604584). Los números entre paréntesis se refieren a aquellos de la Figura 3.

| <b>Estaciones</b>      | <b>Sexagesimal</b> |                | <b>UTM</b> |          |
|------------------------|--------------------|----------------|------------|----------|
| Fuerte San Luis 2 (8)  | 39°36'34.4''S      | 073°09'06.4''W | 5604353N   | 0657102E |
| Sitio Histórico 1 (9)  | 39°36'81.4''S      | 073°09'55.8''W | 5604584N   | 0645336E |
| Nanihue 1 (10)         | 39°38'81.7''S      | 073°09'40.7''W | 5586231N   | 0648578E |
| Nanihue 2 (11)         | 39°39'21.9''S      | 073°09'81.8''W | 5603003N   | 0639112E |
| San Antonio (12)       | 39°39'82.3''S      | 073°09'78.1''W | 5584364N   | 0639653E |
| Cudico 1 (13)          | 39°39'48.7''S      | 073°09'35.7''W | 5594533N   | 0649929E |
| Cudico 2 (14)          | 39°39'12.3''S      | 073°09'03.4''W | 5605602N   | 0657843E |
| Santa Maria 1 (15)     | 39°41'69.5''S      | 073°11'79.3''W | 5584667N   | 0636522E |
| Santa Maria 2 (16)     | 39°40'69.4''S      | 073°12'12.0''W | 5586274N   | 0651122E |
| Santa Maria 3 (17)     | 39°40'51.7''S      | 073°13'44.4''W | 5591906N   | 0642099E |
| Pichoy 1 (18)          | 39°42'82.1''S      | 073°11'06.9''W | 5578605N   | 0653606E |
| Pichoy 2 (19)          | 39°42'22.5''S      | 073°09'07.6''W | 5596928N   | 0656665E |
| Pichoy 3 (20)          | 39°41'22.2''S      | 073°06'15.6''W | 5598826N   | 0658871E |
| Cayumapu 2 (21)        | 39°43'24.7''S      | 073°11'42.0''W | 5594617N   | 0655575E |
| Cayumapu 3 (22)        | 39°43'73.8''S      | 073°10'98.6''W | 5579697N   | 0633275E |
| Cayumapu 4 (23)        | 39°44'40.1''S      | 073°08'44.8''W | 5587949N   | 0649063E |
| Cayumapu 5 (24)        | 39°43'50.4''S      | 073°07'41.0''W | 5586578N   | 0651366E |
| Chorocamayo (25)       | 39°43'86.8''S      | 073°13'48.7''W | 5575553N   | 0640774E |
| Tambillo 1 (26)        | 39°43'29.4''S      | 073°14'34.6''W | 5593215N   | 0643027E |
| Tambillo 2 (27)        | 39°42'03.0''S      | 073°14'29.9''W | 5603184N   | 0644332E |
| San Ramón 2 (28)       | 39°44'22.7''S      | 073°16'03.1''W | 5593343N   | 0647669E |
| San Ramón 3 (29)       | 39°44'11.6''S      | 073°16'68.9''W | 5597051N   | 0632078E |
| Punucapa 3 (30)        | 39°45'66.1''S      | 073°15'59.5''W | 5578333N   | 0635412E |
| Cabo Blanco (31)       | 39°46'65.5''S      | 073°15'35.6''W | 5576566N   | 0641030E |
| Río Valdivia (32)      | 39°49'55.4''S      | 073°15'07.4''W | 5574003N   | 0647699E |
| Río Calle Calle 2 (33) | 39°49'13.0''S      | 073°13'64.3''W | 5587275N   | 0637282E |

## Muestreo del 24 de Noviembre del 2004

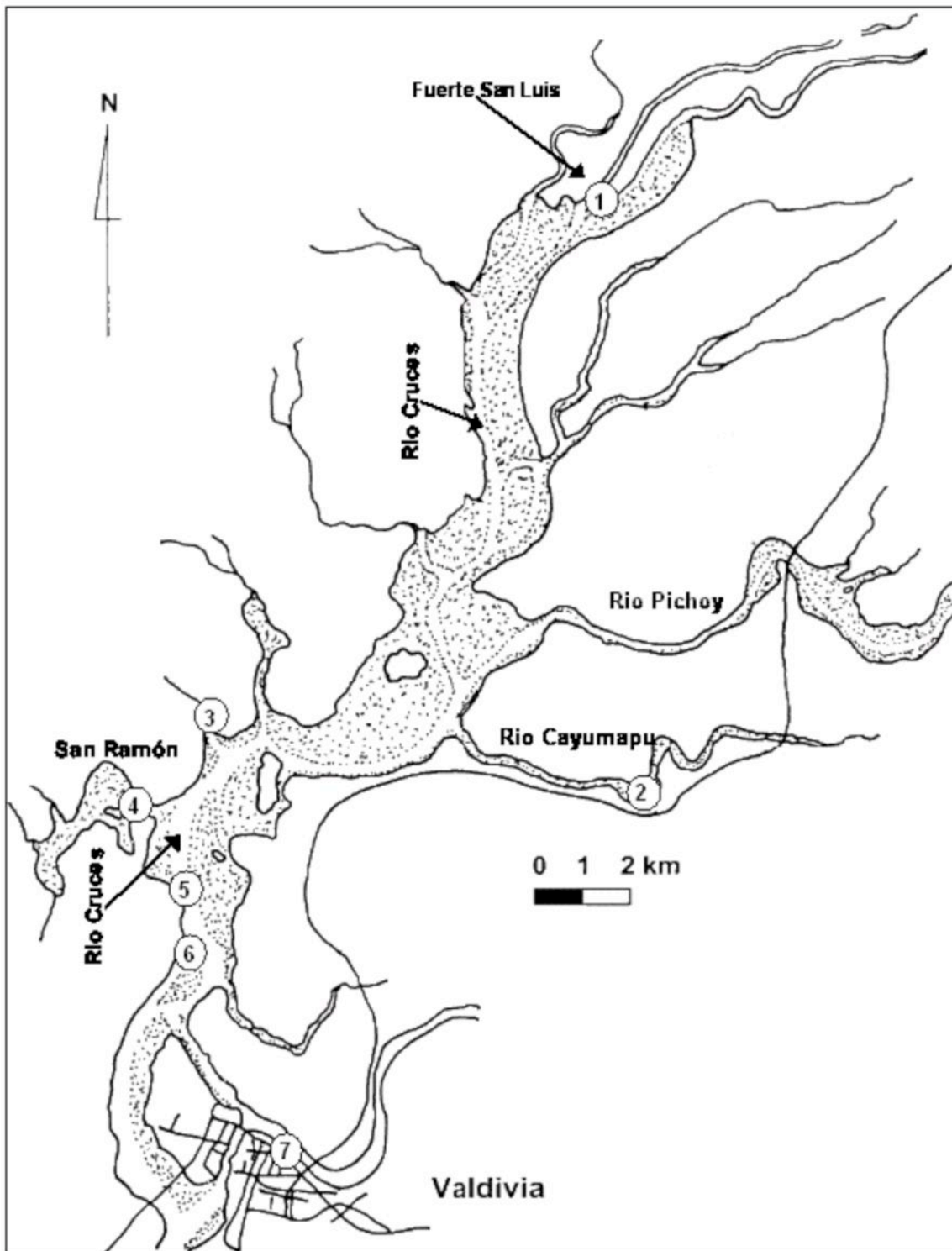


Figura 2. Estaciones de muestros de *Egeria densa* y sedimentos en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 24 de Noviembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de esas estaciones (ver Tabla 13).

## Muestreo del 22 de Diciembre del 2004

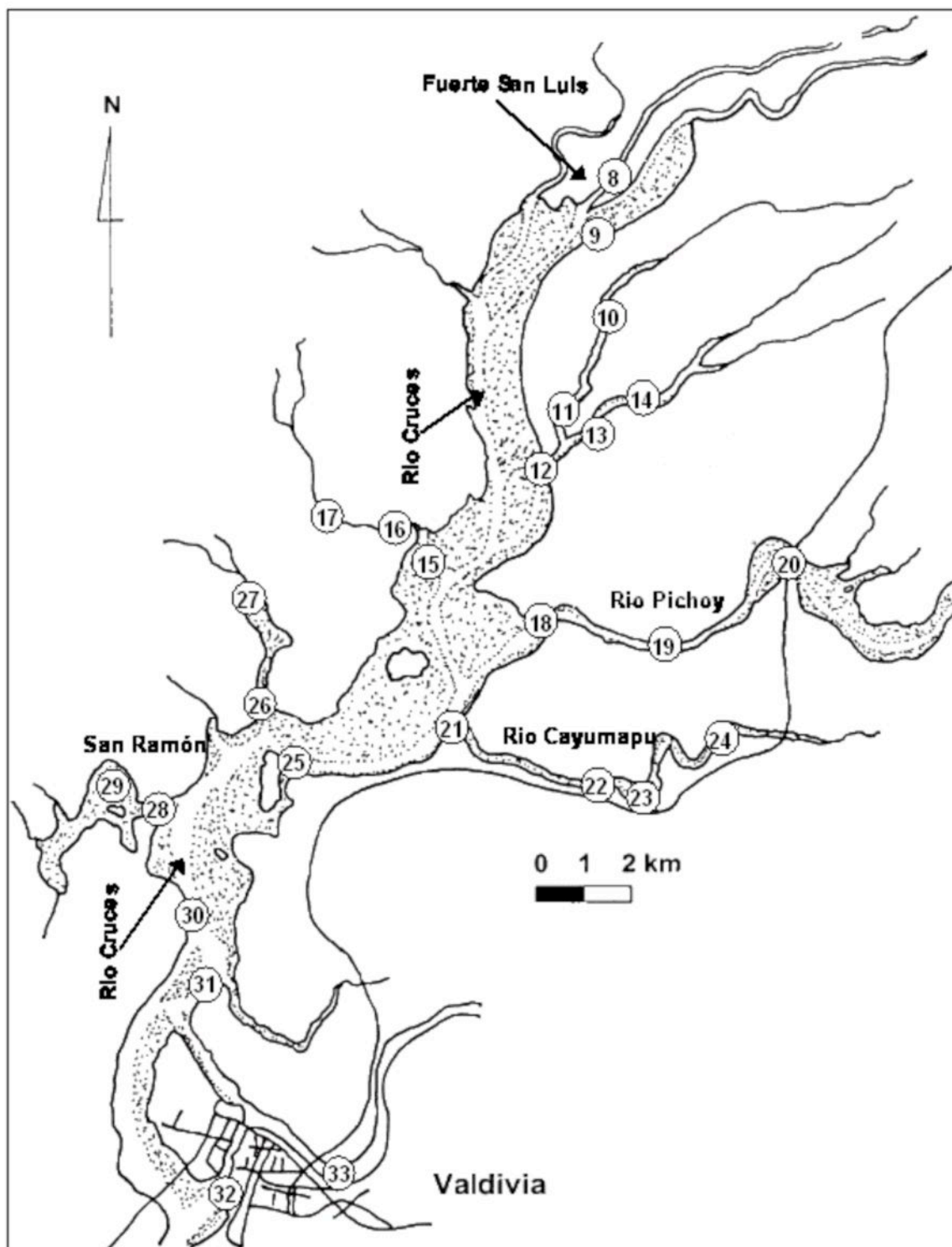


Figura 3. Estaciones de muestreo de *Egeria densa* (Luchecillo) y sedimentos en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 22 de Diciembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de esas estaciones (ver Tabla 14).

Durante el muestreo realizado el 24 de Noviembre, se anotó el estado de las muestras recolectadas en cada estación y la profundidad en que crecían. En el laboratorio se estimó el porcentaje de biomasa (biomasa verde) y el largo y diámetro de los brotes terminales. De cada muestra se destinaron partes para análisis de microscopía óptica y electrónica, además de análisis de concentraciones de metales pesados.

Los remanentes de plantas recolectados se revisaron macroscópicamente para reconocer su estado y establecer así las posibles causas de su deterioro. Se separaron brotes nuevos o ramas de primer orden, ramas de segundo orden y ramas de tercer orden (estas últimas corresponden a las más viejas). Para cada una de estas ramas se hicieron observaciones a la lupa y luego se confeccionaron preparaciones microscópicas frescas. Por la simplicidad del cuerpo de *Egeria densa*, es muy fácil realizar tal tipo de preparaciones, tanto del tallo como de las hojas (Gerlach 1984). Estas preparaciones fueron revisadas y seleccionadas las mejores para hacer fotografías.

### **5.2.2.2. Resultados**

#### **Distribución actual**

Actualmente, las poblaciones de *Egeria densa* del Santuario se encuentran muy deterioradas ya que los escasos individuos que las forman están en un estado deplorable, con escasa biomasa, mucha necromasa (materia muerta) y una proporción altamente anormal de raíces. Estas plantas enfermas, son sólo restos de las antiguas poblaciones. Estos remanentes se ubican a profundidades mayores de las esperadas, incluso ni con marea baja asoman a la superficie, como sucedía antiguamente. Por el contrario, las plantas recolectadas en el estuario del río Calle-Calle (estación 7 del muestreo del 24 de Noviembre) se encuentran aún en buen estado y tienen un crecimiento vigoroso como lo tenían las poblaciones del Santuario con anterioridad al año 2004.

La Fotografía 4 ilustra las diferencias entre plantas del área del Santuario y de áreas fuera de este.



Fotografía 4. Muestras de Luchecillo recolectadas en el Santuario (Punucapa) y en el río Calle-Calle (ribera del sector Las Animas). Nótase la diferencia en la proporción de raíces de ambas muestras (ver texto).

La enorme reducción de las comunidades de *Egeria densa* en el Santuario durante el año 2004, muestra que ha ocurrido muerte masiva de sus poblaciones. Es decir, en un corto lapso de tiempo desapareció del lugar una maleza acuática reconocida por su alta agresividad (cf. Matthei 1995).

### **Estado de las plantas**

Los análisis realizados a las muestras obtenidas durante el muestreo del 24 de Noviembre, señalan que las plantas en mejor estado se encontraron en la estación 7 (ribera del río Calle-Calle). Por el contrario, las poblaciones del Santuario se encontraban en estado deplorable (ver Tabla 15). Todas las poblaciones se encontraban bajo la superficie del agua y las del Santuario bajo 1 m de profundidad. En profundidades menores (como la de los bañados), no se encontró Luchecillo. En todas las poblaciones del Santuario, predominó la

Convenio CONAMA Xª Región de Los Lagos – UACH: Santuario de la Naturaleza Carlos Anwandter

necromasa sobre la biomasa (cf. Ramírez et al. 1989), lo que indica, un estado de gran deterioro que fue corroborado por el diámetro y el tamaño de los brotes terminales más nuevos (Tabla 15).

Tabla 15. Estado sanitario, profundidad y características de las plantas de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes durante el muestreo del 24 de Noviembre del 2004. Los números entre paréntesis hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Fig. 2).

| Estación              | estado | profundidad (cm) | % verde | brotes terminales |               |
|-----------------------|--------|------------------|---------|-------------------|---------------|
|                       |        |                  |         | largo (cm)        | diámetro (cm) |
| Fuerte San Luis 1 (1) | débil  | 200              | 35      | 15.58             | 3.43          |
| Cayumapu 1 (2)        | débil  | 180              | 10      | 9.05              | 1.80          |
| Frente San Ramón (3)  | mal    | 120              | 5       | 2.52              | 1.80          |
| San Ramón 1 (4)       | débil  | 200              | 20      | 7.32              | 2.09          |
| Punucapa 1 (5)        | mal    | 100              | 15      | 3.24              | 2.06          |
| Punucapa 2 (6)        | mal    | 180              | 15      | 6.81              | 2.59          |
| Río Calle-Calle 1 (7) | sano   | 20               | 90      | 11.85             | 3.10          |

### Sintomatología

Las plantas enfermas, presentan ramas viejas de tercer orden, completamente negras y con unas prolongaciones tubulosas anormales que salen tanto del tallo como de las hojas (Fotografía 5). Los estudios microscópicos muestran que estas prolongaciones están formadas por un mucílago o gel, al cual se adhieren sedimentos y especialmente microalgas bentónicas (Diatomeas), las que forman una envoltura en torno a tallos y hojas (Fotografía 6). Esta envoltura de color negro, al interferir con el paso de la luz, impide que la planta realice fotosíntesis reduciendo su vitalidad y causando su muerte (Fotografía 7). A la reducción de la fotosíntesis por falta de luz, contribuye también la turbidez de las aguas del Santuario. El gel que envuelve a las plantas podría tratarse de mucílago eliminado por las mismas como una respuesta al estrés en que encuentran.

Las ramas más jóvenes o de segundo orden están todas cubiertas por esa envoltura de color negro formada por el mucílago y sedimentos atrapados, pero aún sin formar las prolongaciones tubulosas (Fotografía 7). Las ramas nuevas que

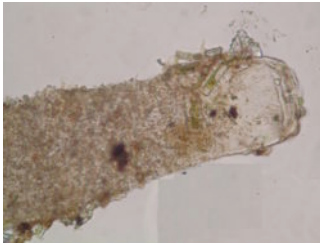
han brotado recientemente, presentan escaso desarrollo y tanto el tallo como las hojas tienen un color rojizo o bronceado. Al examinar en detalle esta coloración, se observa una gran cantidad de grumos de color rojo, algunos con orificios redondos de color blanco, que cubren el tallo y las hojas, y con una orientación que sigue la de las paredes celulares como se aprecia en la Fotografía 8. En el corte transversal por un tallo, se observa como esta coloración roja penetra por las paredes celulares alcanzando la segunda hilera de células. Incluso en la primera hilera de células (la más externa) aparecen algunas necrosadas (Fotografía 9). Conviene recordar que el tallo y las hojas de *Egeria densa* carecen de una epidermis y cutícula protectora, como la que está presente en las plantas terrestres.

Gran parte de los grumos adosados por fuera a las paredes celulares corresponden a acúmulos de Hierro y Manganeseo, como lo demuestra la disminución de las concentraciones de este metal desde las paredes celulares más externas hacia las internas, evidenciada mediante microscopía electrónica (ver punto 5.5). Los orificios blancos corresponden a lugares de inserción de epífitos ya sean diatomeas o algas filamentosas, que se tornan de un color pardo o rojo oscuro por adherencia de estos grumos rojizos y que también mueren.





Fotografía 5. Prolongaciones de mucílago en tallos viejos de plantas de Luchecillo.



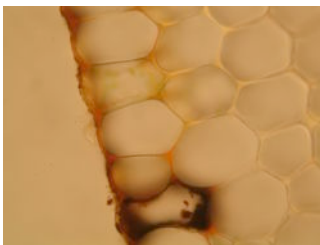
Fotografía 6. Detalle de una prolongación de mucílago con adherencias.



Fotografía 7. Tallos de diferente orden (edad) de plantas de Luchecillo. Las partes más oscuras son las más viejas.



Fotografía 8. Hojas de Luchecillo cubiertas de grumos rojizos que siguen la dirección de las paredes celulares.



Fotografía 9. Corte transversal de un tallo de segundo orden de Luchecillo. Se observa la penetración de la coloración ocre por las paredes celulares y una célula necrosada.

## Referencias

- ALVEAL K, A CANDIA, G COLLANTES, M EDDING, E FONCK, C MELO, A POBLETE, P RIVERA, H ROMO & R WESTERMEIER (1990) Guía de algas marinas chilenas de importancia económica. Red de Algas Marinas - Chile Editora Anibal Pinto, Concepción. 114 pp.
- CASTILLO L. & J. DEY (1908) Jeografía Vegetal del río Valdivia i sus inmediaciones. Imprenta Cervantes, Santiago. 120 pp.
- COOK CDK (1998) Hydrocharitaceae. En: K Kubitzki (ed.): The families and genera of Vascular Plants: 234-248, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- GERLACH D (1984) Botanische Mikrotechnik. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 311 pp.
- HAUENSTEIN E (1981) Distribución y ecología de *Egeria densa* Planch. en la cuenca del río Valdivia. Tesis de Magister, Universidad Austral de Chile, Valdivia. 66 pp.
- HAUENSTEIN E & C RAMIREZ (1986) The influence of salinity on the distribution of *Egeria densa* in the Valdivia river basin, Chile. Archiv für Hydrobiologie (Alemania) 107: 105-124.
- HAUENSTEIN E & E TRONCOSO (1984) Utilización didáctica de macrófitos acuáticos en la enseñanza de la biología. Aula 2000 (Chile) 2: 50-73
- MATTHEI O (1995) Manual de las malezas que crecen en Chile. Alfabeta Impresores, Santiago. 545 pp.
- PALMA B, C SAN MARTIN, M ROSALES, L ZUÑIGA & C RAMIREZ (1987) Distribución espacial de la flora y la vegetación acuática y palustre del estero Marga-Marga en Chile Central. Anales del Instituto de Ciencias del mar y Limnología de la UNAM (México) 14: 125-132.
- RAMIREZ C & S BECK (1981) Makrophytische Vegetation und Flora in Gewässern der Umgebung von la Paz, Bolivien. Archiv für Hydrobiology (Alemania) 91: 82-100.
- RAMIREZ C & C SAN MARTIN (1997) Análisis estadístico multivariado de la vegetación litoral en el Santuario de la Naturaleza "Carlos Andwanter" (Río Cruces, Valdivia, Chile). Revista Geográfica de Valparaíso (Chile) 28: 345-361.
- RAMIREZ C, D CONTRERAS & J SAN MARTIN (1986) Distribución geográfica y formas de vida en hidrófitos chilenos. Actas VIII Congreso Nacional de Geografía, Instituto Geográfico Militar de Chile (IGM) 1: 103-110.
- RAMIREZ C, R GODOY & E HAUENSTEIN (1982) Las especies de "Luchecillos" (Hydrocharitaceae) que prosperan en Chile. Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso 14: 43-54.
- RAMIREZ C, C SAN MARTIN & J SEMPE (1989) Cambios estacionales de tamaño de plantas, biomasa y fenología en una pradera antropogénica del Centro-Sur de Chile. Agro Sur (Chile) 17: 19-28.
- RAMIREZ C, M ROMERO & M RIVEROS (1976) Lista de cormófitos acuáticos de la región valdiviana. Museo Nacional de Historia Natural Santiago Publicación Ocasional (Chile) 22: 3-12.
- RAMIREZ C, M ROMERO & M RIVEROS (1979) Habit, habitat, origin and geographical distribution of Chilean vascular hydrophytes. Aquatic Botany 7: 241-253.

- RAMIREZ C, C SAN MARTIN & J SAN MARTIN (2005) Colmatación por macrófitos del complejo lacustre Vichuquén (VII Región, Chile) y clave para determinación. *Revista Geográfica de Chile Terra Australis (IGM)* 50: 177-194.
- RAMIREZ C, R GODOY, D CONTRERAS & E. STEGMAIER (1982a) Guía de plantas acuáticas y palustres Valdivianas. Universidad Austral de Chile, Dirección de Investigación y Desarrollo, Valdivia. 52 pp.
- RAMIREZ C, C. SAN MARTIN, R MEDINA & D CONTRERAS (1991) Estudio de la flora hidrófila del Santuario de la Naturaleza "Río cruces" (Valdivia, Chile). *Gayana Botánica (Chile)* 48: 67-80.
- RAMIREZ C, J SAN MARTIN, C SAN MARTIN & D CONTRERAS (1987) Estudio florístico y vegetacional de la laguna El Peral, Quinta Región de Chile. *Revista Geográfica de Valparaíso* 18: 105-120.
- RODRIGUEZ R, V DELLAROSSA & M. MUÑOZ (1987) *Egeria densa* Planchon (Hydrocharitaceae) en la Laguna Grande de San Pedro, Concepción, Chile: Anatomía de los órganos vegetativos y aspectos ecológicos. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 58: 141-149.
- SAN MARTIN C, D CONTRERAS & C RAMIREZ (2000) El recurso vegetal del Santuario de la Naturaleza "Carlos Andwanger" (Valdivia, Chile). *Revista Geográfica de Valparaíso* 31: 225-235.
- SAN MARTIN C, C RAMIREZ & P OJEDA (1999) Distribución de macrófitos y patrones de zonación ribereña en la cuenca del río Valdivia, Chile. *Revista Geográfica de Valparaíso* 30: 117-126.
- SAN MARTIN C, R MEDINA, P OJEDA & C RAMIREZ (1993) La biodiversidad vegetacional del Santuario de la Naturaleza "Río cruces" (Valdivia, Chile). *Acta Botánica Malacitana* 18: 259-279.
- SAN MARTIN J & C RAMIREZ (1983) Flora de malezas en arrozales de Chile Central. *Ciencia e Investigación Agraria (Chile)* 10: 207-222.
- SCHLATTER R, J SALAZAR, A VILLA & J MEZA (1991) Reproductive biology of black-necked Swans *Cygnus melancoryphus* at three Chilean wetland areas and feeding ecology at Río Cruces. *Wildfowl-Supplement (Inglaterra)* 1: 268-271.
- ST JOHN H (1961) Monograph of the genus *Egeria* Planchon. *Darwiniana (Argentina)* 12: 639-652.
- ST JOHN H (1967) The pistillate flowers of *Egeria densa* Planchon. *Darwiniana (Argentina)* 11: 571-573.
- STEUBING L, C RAMIREZ & M ALBERDI (1980) Energy content of water- and bog-plant associations in the region of Valdivia (Chile). *Vegetatio* 43: 153-177.
- WATANABE T & KARZULOVIC J (1960) Los movimientos sísmicos del mes de mayo de 1960 en Chile. Publicación Instituto de Geología, Facultad de Ciencias Físicas y matemáticas, Universidad de Chile (Santiago) 14: 23-64.

### **5.3. Revisión bibliográfica sobre efectos de metales pesados en plantas acuáticas**

Los metales pesados se encuentran de manera natural en el medioambiente; sin embargo, un gran número de actividades industriales, tales como fundiciones de plomo, minería y almacenamiento de baterías, entre otros, han incrementado la concentración de estas sustancias en la naturaleza. Debido al creciente conocimiento de los efectos tóxicos que estos elementos producen en el medio ambiente, su estudio ha comenzado a ser de gran importancia, principalmente desde el punto de vista de su remoción desde el medio.

Las plantas acuáticas se caracterizan por ser acumuladoras de metales pesados (Wang et al., 1996; Cardwell et al., 2002; Keskinan et al., 2003; Sivaci et al., 2004). Esta característica ha hecho que la utilización de plantas, para la remoción de metales pesados desde aguas residuales, haya adquirido gran interés en el último tiempo (ver e.g. Keskinan et al., 2003). Además, estos metales pueden quedar disponibles para vertebrados e invertebrados herbívoros, ingresando de este modo a la cadena trófica (Harris & Davison, 2002).

Existen varios mecanismos a través de los cuales las plantas pueden absorber los metales pesados. Si bien algunos de ellos aún no son comprendidos en su totalidad, se ha mencionado (Veglio & Beolchini 1997) que la bioabsorción puede ser clasificada en tres categorías de acuerdo a la ubicación del metal en el organismo:

- i) Acumulación extracelular / precipitación
- ii) Absorción en la superficie celular / precipitación
- iii) Acumulación intracelular

Se ha sugerido que el pH en el agua es uno de los factores más importantes de influencia en el proceso de bioabsorción de metales pesados (e.g. Schneider et

al., 2001; Wang et al., 1996) y esta bioacumulación será mayor con valores de pH más ácidos (Schneider et al., 2001; Satake, 2000; Keskinan et al., 2003).

Los metales pesados pueden ser absorbidos por las plantas desde el ambiente, ya sea a través de las raíces ancladas en el sedimento, o desde la columna de agua con sus hojas (e.g. Salt et al., 1995; Biernacki & Lovett-Doust, 1997). Las mayores concentraciones de estos elementos han sido registradas en las raíces (e.g. Harris & Davidson, 2002; Cardwell et al., 2002).

Según sea la solubilidad bajo condiciones fisiológicas, 17 metales pesados son biodisponibles y por lo tanto son de importancia para los organismos y el ecosistema (Weast, 1984). Schützendübel & Polle (2002) señalan que de estos 17 elementos el Hierro (Fe), Molibdeno (Mo), y el Manganeseo (Mn), actúan como micronutrientes importantes. Por otra parte, el Zinc (Zn), Niquel (Ni), Cobre (Cu), Vanadio (V), Cobalto (Co), Wolframio (W) y el Cromo (Cr) son elementos tóxicos con mayor o menor importancia como elementos traza, en tanto que el Arsénico (As), Mercurio (Hg), Plata (Ag), Antimonio (Sb), Cadmio (Cd), Plomo (Pb) y el Uranio (U) no tienen función conocida como nutrientes.

Las microconcentraciones de metales pesados pueden afectar a diferentes componentes celulares, interfiriendo de este modo, con el normal funcionamiento del metabolismo de los organismos (Prasad & Hagemeyer, 1999 en Aravind et al., 2003). En plantas, uno de los principales sitios donde los metales pesados ejercen su actividad tóxica es a nivel de la membrana celular, destruyendo su estructura lipídica (Aravind et al., 2003). Por ejemplo, los últimos autores encuentran que el Cadmio afectó negativamente a la planta acuática *Ceratophyllum demersum* L., a través de la desestabilización de su sistema de membranas celulares.

Monni et al. (2001), estudiaron la respuesta del arbusto enano *Empetrum nigrum* L., a la depositación de metales pesados, desde una industria fundidora de Cu-Ni en el sur oeste de Finlandia, y encontraron que aquellos arbustos ubicados más cerca (i.e. 0.5 km) de la industria disminuyeron sus contenidos de pigmentos

de clorofila *a*, resultando en una reducción de la actividad fisiológica de esta especie, en relación a aquellos presentes en zonas más alejadas de la fuente de contaminación (i.e. 8 km).

Sivaci et al. (2004), encontraron que los niveles de clorofila *a*, clorofila *b* y los carotenoides de la planta acuática *Myriophyllum spicatum* L., disminuyeron significativamente cuando fueron expuestas a concentraciones de 16 mg / L de Cadmio. Por otra parte, en la planta *Myriophyllum triphyllum* (Orchard), las concentraciones de esos mismos parámetros disminuyeron en presencia de concentraciones menores de Cadmio (i.e. 8 mg / L). Resultados similares fueron registrados por Terry & Stone (2002), quienes registraron una disminución en el contenido de clorofila *a* en el alga verde *Scenedesmus abundans*, con concentraciones de Cadmio que variaron en 5 y 20 mg / L.

Varios estudios han mostrado que elevadas concentraciones de Hierro pueden afectar negativamente el crecimiento y el sistema de raíces de varias especies de plantas de humedales, dependiendo de sus mecanismos de tolerancia (e.g. Snowden & Wheeler, 1993, 1995). El desarrollo de puntos necróticos color café es una de las principales características del efecto tóxico producido por altas concentraciones de Hierro. Por ejemplo, Yamuchi (1989) (en Marschner, 1995), señala que el tono “bronceado” (café) en las hojas de la planta de arroz que habita en humedales es el resultado de un desorden nutricional causado por la toxicidad del Hierro en concentraciones de 700 mg / kg de peso seco. El exceso de Hierro cataliza la formación de radicales de hidroxilos en los cloroplastos, los cuales son altamente fitotóxicos y responsables de la peroxidación de la membrana de lípidos y la degradación de proteínas en las plantas (Marschner, 1995).

Lucassen et al. (2000), estudiaron el efecto de la concentración de Hierro en la planta acuática *Glyceria fluitans* (L.) en dos zonas de Holanda con diferencias de hasta tres ordenes de magnitud en la concentración de Hierro. Estos autores encontraron que en el área con mayores niveles de Hierro, la concentración de placas de este elemento sobre las raíces y hojas fue 9 y 18 veces mayor (473 y

32.8  $\mu\text{mol} / \text{g}$  peso seco). Sobre la base de estos resultados, Lucassen et al. (2000) concluyen que los puntos necróticos color café registrados en estas plantas son producto de los efectos tóxicos de las altas concentraciones de Hierro.

Snowden & Wheeler (1993), observaron que la distribución espacial de plantas de pantano en Gran Bretaña, estuvo fuertemente influenciada por la concentración de Hierro en el medio: aquellas plantas más sensibles a este elemento ocurrieron en zonas con menor concentración del mismo. Otro factor estrechamente y negativamente correlacionado con la concentración de Hierro, registrado por estos autores fue la tasa de crecimiento de estas plantas (Snowden & Wheeler, 1993).

Los efectos tóxicos del Manganese presentan síntomas similares a los del Hierro, es decir se caracterizan por una pigmentación café en las plantas (Marschner, 1995; Dobermann & Fairhurst, 2000). Unni et al. (1995), estudiaron en condiciones de laboratorio el efecto del Manganese sobre la planta de arroz (*Oryza sativa*). Estos autores expusieron plantas a concentraciones de 2 y 200 mg / L de Manganese por un periodo de 40 días. Sus resultados muestran una disminución progresiva de la cantidad de clorofila *a* y proteínas y la longitud del tallo en relación a plantas controles sin exposición a Manganese.

Wang & Wuncheng (1986), evaluaron el crecimiento de la planta *Lemna minor* en presencia de Manganese, encontrando una reducción en el crecimiento de sus frondas (EC 50) cuando la concentración de este metal fue de 31 mg / L.

El Cobre es un micronutriente necesario para el desarrollo normal de las plantas; sin embargo se ha observado que este elemento es uno de los más tóxicos cuando se encuentra por sobre los niveles normales (Mal et al. 2002).

Taylor & Crowder (1982) en Wainio et al (2003), encontraron una reducción en la producción, biomasa y elongación de las hojas en la planta *Typha latifolia*, en

un humedal de Ontario, Canada, con concentraciones de Cobre de 80 ppm en los tejidos de las hojas .

Mal et al. (2002), estudiaron en condiciones de laboratorio el efecto del Cobre sobre el crecimiento de la planta *Elodea canadensis*, colectada desde Shaker Lakes, Ohio, USA. Los resultados de este trabajo mostraron que *E. canadensis* fue altamente sensible a los niveles de Cobre, exhibiendo una disminución en la tasa de crecimiento con concentraciones de 1 ppm. Las plantas presentaron además un rápido envejecimiento de las hojas y un deterioro de su condición general.

Küpper et al. (1996), encontraron que un importante mecanismo a través del cual el Cobre ejerce un efecto tóxico sobre las plantas, es sustituyendo el átomo central de la clorofila *a* (Magnesio). Esta substitución interrumpiría el proceso de fotosíntesis en las plantas afectadas produciendo el deterioro y la muerte de las mismas.

Terry & Stone (2002), registraron en condiciones de laboratorio, que el alga verde *S. abundans*, disminuyó su concentración de clorofila *a*, cuando fue expuesta a concentraciones de Cobre entre 5 y 20 mg / L.

Debido a su capacidad de adsorber metales pesados desde el ambiente, las plantas acuáticas son herramientas útiles para realizar procesos de remoción natural de estos elementos. Además, debido a su condición sésil y a su capacidad de biomagnificar las concentraciones de metales pesados, también resultan muy buenas bioindicadoras de contaminación por estos elementos. A pesar que algunas especies han desarrollado mecanismos para tolerar altas concentraciones de metales pesados, sobre ciertas concentraciones umbrales, los metales pesados comienzan a ejercer efectos tóxicos sobre las plantas, llevándolas en caso extremo a la muerte.



A continuación se presentan dos Tablas con valores de concentración de metales pesados registrados en diversas especies de plantas acuáticas alrededor del mundo.

La Tabla 16 muestra las concentraciones de metales pesados en plantas de *Egeria densa* y *Egeria najas*; estas muestras fueron obtenidas desde el río Tiete en Brazil, en una zona considerada libre de fuentes importantes de contaminación. Por esta razón, los niveles de los metales pesados registrados en ese estudio, son considerados como normales en esta revisión.

La Tabla 17 muestra la concentración de metales pesados en especies de plantas acuáticas presentes en zonas caracterizadas por una importante presencia de fuentes generadoras de estas sustancias y zonas consideradas como libres de estas fuentes de contaminación. Además, se muestran los niveles de metales pesados antes y después de iniciadas actividades industriales potencialmente generadoras de estos metales.

Tabla 16. Concentraciones de metales pesados en las especies *Egeria densa* y *Egeria najas* durante el año 2001 en el Río Tiete, Brasil, una zona considerada libre de fuentes importantes de contaminación.

| Especie             | Metal    | Concentración  | Condición | Lugar              | Referencia          |
|---------------------|----------|----------------|-----------|--------------------|---------------------|
| <i>Egeria densa</i> | Aluminio | 1305.3 mg / kg | verano    | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria densa</i> | Aluminio | 1330.3 mg / kg | invierno  | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria densa</i> | Cobre    | 20.7 mg / kg   | verano    | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria densa</i> | Cobre    | 5.9 mg / kg    | invierno  | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria densa</i> | Hierro   | 2537.0 mg / kg | verano    | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria densa</i> | Hierro   | 2154.9 mg / kg | invierno  | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria densa</i> | Zinc     | 102.9 mg / kg  | verano    | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria densa</i> | Zinc     | 20.7 mg / kg   | invierno  | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria najas</i> | Aluminio | 1295.5 mg / kg | verano    | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria najas</i> | Aluminio | 1794.0 mg / kg | invierno  | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria najas</i> | Cobre    | 18.0 mg / kg   | verano    | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria najas</i> | Cobre    | 5.7 mg / kg    | invierno  | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria najas</i> | Hierro   | 2668.0 mg / kg | verano    | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria najas</i> | Hierro   | 2958.5 mg / kg | invierno  | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria najas</i> | Zinc     | 130.5 mg / kg  | verano    | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |
| <i>Egeria najas</i> | Zinc     | 20.2 mg / kg   | invierno  | Río Tiete (Brasil) | Correa et al (2003) |

Tabla 17. Concentraciones de metales pesados citados en publicaciones científicas para especies de plantas acuáticas.

| Especie                | Metal     | Concentración  | Condición                 | Lugar                            | Referencia            |
|------------------------|-----------|----------------|---------------------------|----------------------------------|-----------------------|
| <i>Typha latifolia</i> | Cadmio    | 0.96 mg / kg   | raíz, inicio proyecto     | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cadmio    | 0.58 mg / kg   | raíz, 3 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cadmio    | 0.47 mg / kg   | raíz, 6 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cadmio    | 0.37 mg / kg   | raíz, 9 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cadmio    | 0.05 mg / kg   | Hojas, inicio proyecto    | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cadmio    | 0.23 mg / kg   | hojas, 3 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 10.2 mg / kg   | raíz, inicio de proyecto  | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 18.4 mg / kg   | raíz, 3 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 19.8 mg / kg   | raíz, 6 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 38.5 mg / kg   | raíz, 9 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 41.8 mg / kg   | raíz, 15 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 33.9 mg / kg   | raíz, 20 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 9.0 mg / kg    | Raíz, valor normal        | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 5.71 mg / kg   | hoja, inicio del proyecto | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 5.32 mg / kg   | hoja, 3 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 2.55 mg / kg   | hoja, 6 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 8.91 mg / kg   | hoja, 9 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 5.30 mg / kg   | hoja, 15 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 7.71 mg / kg   | hoja, 20 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 3.28 mg / kg   | hoja, valor normal        | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Cobre     | 210 ppm        | zona contaminada          | Ontario (Canadá) <sup>1</sup>    | Wainio et al (2000)   |
| <i>Typha latifolia</i> | Hierro    | 1607 mg / kg   | raíz, inicio del proyecto | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Hierro    | 1098 mg / kg   | raíz, 3 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Hierro    | 398 mg / kg    | raíz, 15 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Hierro    | 912 mg / kg    | raíz, 20 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Hierro    | 54.5 mg / kg   | hoja, inicio del proyecto | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Hierro    | 62.6 mg / kg   | hoja, 3 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Hierro    | 40.1 mg / kg   | hoja, 15 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Hierro    | 38.8 mg / kg   | hoja, 20 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Hierro    | 6088 ppm       | zona contaminada          | Ontario (Canadá) <sup>1</sup>    | Wainio et al (2000)   |
| <i>Typha latifolia</i> | Manganeso | 1096.6 mg / kg | raíz, inicio del proyecto | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Manganeso | 236.9 mg / kg  | raíz, 3 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Manganeso | 131.6 mg / kg  | raíz, 6 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Manganeso | 70.1 mg / kg   | raíz, 9 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Manganeso | 70.0 mg / kg   | raíz, 15 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Manganeso | 53.6 mg / kg   | raíz, 20 meses después    | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Manganeso | 573 mg / kg    | Raíz, valor normal        | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Manganeso | 826.3 mg / kg  | hoja, inicio del proyecto | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup> | Staelens et al (2000) |
| <i>Typha latifolia</i> | Manganeso | 234.7 mg / kg  | hoja, 3 meses después     | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup> | Staelens et al (2000) |

Continuación Tabla 17.

| Especie                       | Metal     | Concentración  | Condición                   | Lugar                                    | Referencia               |
|-------------------------------|-----------|----------------|-----------------------------|--|--------------------------|
| <i>Typha latifolia</i>        | Manganeso | 742 mg / kg    | hoja, 6 meses después       | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup>         | Staelens et al (2000)    |
| <i>Typha latifolia</i>        | Manganeso | 139 mg / kg    | hoja, 9 meses después       | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup>         | Staelens et al (2000)    |
| <i>Typha latifolia</i>        | Manganeso | 209 mg / kg    | hoja, 15 meses después      | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup>         | Staelens et al (2000)    |
| <i>Typha latifolia</i>        | Manganeso | 175 mg / kg    | hoja, 20 meses después      | Bangkok (Tailandia) <sup>1</sup>         | Staelens et al (2000)    |
| <i>Typha latifolia</i>        | Manganeso | 435.0 mg / kg  | hoja, valor normal          | Bangkok (Tailandia) <sup>2</sup>         | Staelens et al (2000)    |
| <i>Typha latifolia</i>        | Níquel    | 349 ppm        | zona contaminada            | Ontario (Canadá) <sup>1</sup>            | Wainio et al (2000)      |
| <i>Ceratophyllum demersum</i> | Cobre     | 24.2 mg / kg   | verano, valor normal        | Río Tiete (Brasil) <sup>2</sup>          | Correa et al (2003)      |
| <i>Ceratophyllum demersum</i> | Cobre     | 4.6 mg / kg    | Invierno, valor normal      | Río Tiete (Brasil) <sup>2</sup>          | Correa et al (2003)      |
| <i>Ceratophyllum demersum</i> | Hierro    | 3456.8 mg / kg | verano, valor normal        | Río Tiete (Brasil) <sup>2</sup>          | Correa et al (2003)      |
| <i>Ceratophyllum demersum</i> | Hierro    | 3526.2 mg / kg | Invierno, valor normal      | Río Tiete (Brasil) <sup>2</sup>          | Correa et al (2003)      |
| <i>Ceratophyllum demersum</i> | Magnesio  | 19.6 g / kg    | verano, valor normal        | Río Tiete (Brasil) <sup>2</sup>          | Correa et al (2003)      |
| <i>Ceratophyllum demersum</i> | Magnesio  | 9.8 g / kg     | Invierno, valor normal      | Río Tiete (Brasil) <sup>2</sup>          | Correa et al (2003)      |
| <i>Myriophyllum spicatum</i>  | Cadmio    | 1.9 mg / kg    | zona contaminada            | Cheseapeake (USA) <sup>1</sup>           | Beyer et al (2004)       |
| <i>Myriophyllum spicatum</i>  | Cobre     | 23 mg / kg     | zona contaminada            | Cheseapeake (USA) <sup>1</sup>           | Beyer et al (2004)       |
| <i>Myriophyllum spicatum</i>  | Cobre     | 3246 ppm       | zona contaminada            | Ontario (Canadá) <sup>1</sup>            | Wainio et al (2000)      |
| <i>Myriophyllum spicatum</i>  | Hierro    | 4900 mg / kg   | zona contaminada            | Cheseapeake (USA) <sup>1</sup>           | Beyer et al (2004)       |
| <i>Myriophyllum spicatum</i>  | Hierro    | 9291 ppm       | zona contaminada            | Ontario (Canadá) <sup>1</sup>            | Wainio et al (2000)      |
| <i>Myriophyllum spicatum</i>  | Magnesio  | 3800 mg / kg   | zona contaminada            | Cheseapeake (USA) <sup>1</sup>           | Beyer et al (2004)       |
| <i>Myriophyllum spicatum</i>  | Níquel    | 384 ppm        | zona contaminada            | Ontario (Canadá) <sup>1</sup>            | Wainio et al (2000)      |
| <i>Scirpus acutus</i>         | Cobre     | 260 ppm        | zona contaminada            | Ontario (Canadá) <sup>1</sup>            | Wainio et al (2000)      |
| <i>Scirpus acutus</i>         | Hierro    | 3925 ppm       | zona contaminada            | Ontario (Canadá) <sup>1</sup>            | Wainio et al (2000)      |
| <i>Scirpus acutus</i>         | Níquel    | 493 ppm        | zona contaminada            | Ontario (Canadá) <sup>1</sup>            | Wainio et al (2000)      |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.21 mg / kg   | antes de industria (1995)   | Ohakuri (N. Zelandia) <sup>2</sup>       | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.43 mg / kg   | después de industria (2000) | Ohakuri (N. Zelandia) <sup>1</sup>       | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.2 mg / kg    | antes de industria (1995)   | Atiamuri (N. Zelandia) <sup>2</sup>      | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.65 mg / kg   | después de industria (2000) | Atiamuri (N. Zelandia) <sup>1</sup>      | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.28 mg / kg   | antes de industria (1995)   | Whakamaru (N. Zelandia) <sup>2</sup>     | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.54 mg / kg   | después de industria (2000) | Whakamaru (N. Zelandia) <sup>1</sup>     | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.2 mg / kg    | antes de industria (1995)   | Maraetai (N. Zelandia) <sup>2</sup>      | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.79 mg / kg   | después de industria (2000) | Maraetai (N. Zelandia) <sup>1</sup>      | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.43 mg / kg   | antes de industria (1995)   | Waipapa (N. Zelandia) <sup>2</sup>       | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 1.10 mg / kg   | después de industria (2000) | Waipapa (N. Zelandia) <sup>1</sup>       | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.19 mg / kg   | antes de industria (1995)   | Arapui (N. Zelandia) <sup>2</sup>        | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.43 mg / kg   | después de industria (2000) | Arapui (N. Zelandia) <sup>2</sup>        | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.18 mg / kg   | antes de industria (1995)   | Karapio (N. Zelandia) <sup>2</sup>       | Gibbs & Catley (2000)    |
| Plantas acuáticas *           | Cadmio    | 0.32 mg / kg   | después de industria (2000) | Karapio (N. Zelandia) <sup>2</sup>       | Gibbs & Catley (2000)    |
| <i>Lagrosiphon major</i>      | Cadmio    | 0.11 mg / kg   | antes de industria (1995)   | Aratiatia (N. Zelandia) <sup>2</sup>     | Gibbs & Catley (2000)    |
| <i>Lagrosiphon major</i>      | Cadmio    | 0.11 mg / kg   | después de industria (2000) | Aratiatia (N. Zelandia) <sup>1</sup>     | Gibbs & Catley (2000)    |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre     | 33 ppm         | raíz, zona urbana           | Mermaid Pools (Australia) <sup>1</sup>   | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre     | 40 ppm         | raíz, zona urbana           | David Thomas (Australia) <sup>1</sup>    | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre     | 70 ppm         | raíz, zona urbana           | Millers Reserve (Australia) <sup>1</sup> | Harris & Davidson (2002) |

Continuación Tabla 17.

| Especie                       | Metal  | Concentració | Condición         | Lugar                                    | Referencia               |
|-------------------------------|--------|--------------|-------------------|--|--------------------------|
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 33 ppm       | raíz, zona urbana | Burnt Bridge (Australia) <sup>1</sup>    | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 34 ppm       | raíz, zona urbana | Near Footbridge (Australia) <sup>1</sup> | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 57 ppm       | raíz, zona urbana | Balgowlah Golf (Australia) <sup>1</sup>  | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 55 ppm       | raíz, zona urbana | Quirk (Australia) <sup>1</sup>           | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 52 ppm       | raíz, zona urbana | Wakehurst Golf (Australia) <sup>2</sup>  | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 18 ppm       | hoja, zona urbana | Mermaid Pools (Australia) <sup>1</sup>   | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 20 ppm       | hoja, zona urbana | David Thomas (Australia) <sup>1</sup>    | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 56 ppm       | hoja, zona urbana | Millers Reserve (Australia) <sup>1</sup> | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 18 ppm       | hoja, zona urbana | Burnt Bridge (Australia) <sup>1</sup>    | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 28 ppm       | hoja, zona urbana | Near Footbridge (Australia) <sup>1</sup> | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 42 ppm       | hoja, zona urbana | Balgowlah Golf (Australia) <sup>1</sup>  | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 35 ppm       | hoja, zona urbana | Quirk (Australia) <sup>1</sup>           | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Cobre  | 33 ppm       | hoja, zona urbana | Wakehurst Golf (Australia) <sup>2</sup>  | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 1400 ppm     | raíz, zona urbana | Mermaid Pools (Australia) <sup>1</sup>   | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 20000 ppm    | raíz, zona urbana | David Thomas (Australia) <sup>1</sup>    | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 10000 ppm    | raíz, zona urbana | Millers Reserve (Australia) <sup>1</sup> | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 90000 ppm    | raíz, zona urbana | Burnt Bridge (Australia) <sup>1</sup>    | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 8000 ppm     | raíz, zona urbana | Near Footbridge (Australia) <sup>1</sup> | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 9000 ppm     | raíz, zona urbana | Balgowlah Golf (Australia) <sup>1</sup>  | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 10000 ppm    | raíz, zona urbana | Quirk (Australia) <sup>1</sup>           | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 4000 ppm     | raíz, zona urbana | Wakehurst Golf (Australia) <sup>2</sup>  | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 2000 ppm     | hoja, zona urbana | Mermaid Pools (Australia) <sup>1</sup>   | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 4000 ppm     | hoja, zona urbana | David Thomas (Australia) <sup>1</sup>    | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 8000 ppm     | hoja, zona urbana | Millers Reserve (Australia) <sup>1</sup> | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 2000 ppm     | hoja, zona urbana | Burnt Bridge (Australia) <sup>1</sup>    | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 6000 ppm     | hoja, zona urbana | Near Footbridge (Australia) <sup>1</sup> | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 4000 ppm     | hoja, zona urbana | Balgowlah Golf (Australia) <sup>1</sup>  | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 8000 ppm     | hoja, zona urbana | Quirk (Australia) <sup>1</sup>           | Harris & Davidson (2002) |
| <i>Myriophyllum aquaticum</i> | Hierro | 2000 ppm     | hoja, zona urbana | Wakehurst Golf (Australia) <sup>2</sup>  | Harris & Davidson (2002) |

1. Áreas cercanas a centros urbanos o industriales

2. Áreas consideradas sin contaminación

\* Estos valores fueron obtenidos desde macerados de plantas de *Egeria densa* y *Ceratophyllum demersum*.

## Referencias

- ARAVIND P & MNV PRASAD (2003) Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L.: a free floating freshwater macrophyte. *Plant Physiology and Biochemistry* 41: 391-397.
- BEYER NW & D DAY (2004) Role of Manganese oxides in the exposure of mute swans (*Cygnus olor*) to Pb and other elements in the Chesapeake Bay, USA. *Environmental Pollution* 129: 229-235.
- BIERNACKI M & J LOVETT-DOUST (1997) *Vallesneria americana* (Hydrocharitaceae) as a biomonitor of aquatic ecosystems: comparison of cloned genotypes. *American Journal of Botany* 84: 1743 – 1751.
- CARDWELL AJ, DW HAWER & M GREENWAY (2002) Metal accumulation in aquatic macrophytes from southeast Queensland, Australia. *Chemosphere* 48: 653-663.
- CORREA MR, ED VELINI & DP ARRUDA (2003) Chemical and Bromatological Composition of *Egeria densa*, *Egeria najas* and *Ceratophyllum demersum*. *Planta Daninha Vicosa- MG* 21: 7-13.
- DOBERMANN A & T FAIRHUST (2000) Rice: Nutrient disorders & Nutrient management. Potash and Phosphate Institute and International Rice Research Institute.
- ELITH M & S GORWOOD (2001) Investigation into the levels of heavy metals within the manly Dan Catchment. En: Freshwater ecology report. Department of Environmental Sciences, University of Technology, Sydney.
- GIBBS M & K COSTLEY (2001) Heavy metals in waikato hydro power station weed dump sites. Technical Report.
- HARRIS CJ & IJ DAVIDSON (2002) Heavy Metal Concentrations in Macrophytes from the Manly Lagoon Catchment. En: UTS Freshwater Ecology Report 2002, Department of Environmental Sciences, University of Technology, Sydney.
- KESKINKAN O, MZL GOSKU, A YUCEER, M BASIBUYUK & CF FORSTER (2003) Heavy metal adsorption characteristics of a submerged aquatic plant (*Myriophyllum spicatum*). *Process Biochemistry* 39: 179-183.
- KOVÁCS M ( 1978) The element accumulation in submerged aquatic plant species in Lake Balaton. *Acta Botanica Academiae Scientiarum Hungaricae* 24: 273-283.
- KUPPER H, F KUPPER & SPILLER M (1996) Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. *Journal of Experimental Botany* 47, 259-266.
- LUCASSEN E, A SMOLDERS & J ROELOFS (2000) Increased groundwater levels cause iron toxicity in *Glyceria fluitans* (L.). *Aquatic Botany* 66: 321-327.
- MAL TK, P ADORJAN & AL CORBETT (2002) Effect of copper on growth of an aquatic macrophyte, *Elodea canadensis*. *Environmental Pollution* 120: 307-311.
- MARSCHNER H (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants. Second Edition. Academic Press, London
- MONNI S, C UHLIG, E HANSEN & E MAGEL (2001) Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metal pollution. *Environmental Pollution* 2001: 121-129.
- PRASAD M & J HAGEMeyer , eds (1999) Heavy metals stress in plants from molecules to ecosystems. Springer Verlag Heidelberg.

- SALT D, M BLAYLOCK, NPBA KUMAR, V DUSHENKOV, BD ENSLEY, I CHET & I RASKIN (1995) Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment
- SATAKE K (2000) Iron accumulation on the cell wall of the aquatic moss *Drepanocladus fluitans* in an acid lake at pH 3.4 – 3.8. *Hydrobiology* 433: 25 - 30
- SCHNEIDER IAH & J RUBIO (1999) Sorption of heavy metal ions by the nonliving biomass of freshwater macrophytes. *Environmental Science and Technology* 33: 2213-2217.
- SCHNEIDER IAH, J RUBIO & R SMITH (2001) Biosorption of heavy metals onto plant biomass: exchange adsorption or surface precipitation. *International Journal of the Mineral Processing* 62: 111-120.
- SCHÜTZENDÜBEL A & A POLLE (2002) Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany* 53: 1351-1365.
- SIVACI RE, A SIVACI & M SÖKMEN (2004) Biosorption of cadmium by *Myriophyllum spicatum* L. and *Myriophyllum tryphyllum* orchad. *Chemosphere* 56: 1043-1048.
- SNOWDEN R & B WHEELER (1993) Iron toxicity to fen plant species. *Journal of Ecology* 81: 35-46
- SNOWDEN R & BD WHEELER (1995). Chemical changes in selected wetland plant species with increasing Fe supply, with specific reference to root precipitates and Fe tolerance. *New Phytologist*. 131: 503-520
- STAELENS N, C POLPRAST, T KOOTTATEP & PARKPIAN P (2001) Fate of metals and heavy metals in constructed wetlands for septage dewatering. *Asias Institute of technology*. Bangkok, Thailand.
- TAYLOR GJ & AA CROWDER (1982) Uptake and Accumulation of Copper, Nickel and Iron by *Typha latifolia* Grown in Solution Culture. *Canadian Journal of Botany* 61: 1825-1830.
- TERRY PA & W STONE (2002) Biosorption of cadmium and copper contaminated water by *Scenedesmus abundans*. *Chemosphere* 47: 249 – 255.
- UNNI PN, G SANTHAUMR & SR NAIR (1995) Metal toxicity in Acid Soils – Manganese on Growth and Physiology of Rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Environmental Studies*, Section B, Vol 47 (2): 151-158.
- VEGLIO F & F BEOLCHINI (1997) Removal of heavy metal ions by biosorption: a review. *Hydrometallurgy* 44: 301-316.
- WAINIO S, D BECKETT, D PEARSON & G COURTIN (2003) A potential remediation strategy using wetland vegetation and aquatic macrophytes in Kelley Lake, Sudbury, Ontario. Technical Report.
- WANG TC & LF WUNCHENG (1986) Tests of Aquatic Pollutants by Using Common Duckweed. *Environmental Pollution (Series B)* 11: 1-14.
- WANG TC, JC WEISSMAN, G RAMESH, R VARADARAJAN & JR BENEMANN (1996) Parameters for Removal of Toxic Heavy Metals by Water Milfoil (*Myriophyllum spicatum*) *Bulletin of the Environment, Contamination and Toxicology*. 57: 779-786.
- WEAST RC (1984) *CRC Handbook of chemistry and physics* 64<sup>th</sup> ed: Boca Raton, CRC Press.

## **5.4. Estudio toxicológico del Luchecillo del Santuario y lugares adyacentes**

### **5.4.1. Concentración de metales pesados y compuestos orgánicos**

#### **5.4.1.1. Metodologías**

Se analizaron las concentraciones de metales pesados y compuestos orgánicos persistentes en las muestras de *Egeria densa* recolectadas durante los muestreos del 24 de Noviembre y del 22 de Diciembre del 2004. Como mencionado anteriormente, durante el segundo muestreo no se detectó la presencia de Luchecillo en 11 de los 24 sitios ubicados dentro del Santuario.

Para la determinación de Cadmio, Cromo, Cobre, Hierro, Manganeso, Mercurio, Níquel, Plomo y Zinc, se usó el método espectrofotométrico de absorción atómica por llama (1 a 7 en lista de referencias metodológicas). Este se basa en una digestión preliminar de la muestra para reducir interferencias de materia orgánica y obtener los metales en forma libre y en la medición de los iones totales por aspiración directa hacia una llama de aire acetileno. Las muestras para determinación de Mercurio se digirieron por el método de digestión asistida por microondas y su posterior análisis se realizó por generación de hidruros, que para el caso de este metal debe hacerse en presencia y ausencia de llama (vapor frío), respectivamente (4 en lista de referencias metodológicas). La digestión para la determinación de Cadmio, Cromo, Cobre, Hierro, Manganeso, Niquel y Zinc se realizó con una mezcla de ácido nítrico y ácido sulfúrico, a la vez que la digestión húmeda de Plomo se realizó con ácido nítrico.

Para la determinación de compuestos fenólicos, fenólicos halogenados y organoclorados individuales y totales se usó el método U.S.EPA 8270C (9 en lista de referencias metodológicas) en conjunto con el método U.S.EPA 3650B (8 en lista de referencias metodológicas). Las extracciones se realizaron por el método U.S.EPA 3570 (10 en en lista de referencias metodológicas).



## 5.4.1.2. Resultados

### Metales pesados

La Tabla 18 muestra las concentraciones de metales pesados en plantas de Luchecillo recolectadas durante los muestreos del 24 de Noviembre (muestras 1 a 7) y 22 de Diciembre del 2004 (muestras 8 a 33). Esas concentraciones se expresan en mg por kg de peso seco de Luchecillo.

Tabla 18. Concentración de metales pesados (mg / kg de peso seco) detectados en muestras de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes. Los números entre paréntesis hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tablas 13 y 14).

| Estación                                | Hierro   | Manganeso | Zinc    | Cobre | Niquel | Cromo | Plomo  | Cadmio | Mercurio |
|---|----------|-----------|---------|-------|--------|-------|--------|--------|----------|
| <b>Muestreo realizado el 24-11-2004</b> |          |           |         |       |        |       |        |        |          |
| Fuerte San Luis 1 (1)                   | 26107.00 | 12911.00  | 391.00  | 58.90 | 20.20  | 4.90  | < 1.50 | 0.67   | < 0.03   |
| Cayumapu 1 (2)                          | 15371.00 | 11873.00  | 379.00  | 57.00 | 9.90   | 4.20  | 2.80   | 0.90   | < 0.03   |
| Frente San Ramón (3)                    | 16799.00 | 8244.00   | 135.00  | 34.00 | 13.20  | 4.00  | < 1.50 | 0.41   | < 0.03   |
| San Ramón 1 (4)                         | 32260.00 | 4776.00   | 117.00  | 18.40 | 7.30   | 5.00  | < 1.50 | 0.45   | < 0.03   |
| Punucapa 1 (5)                          | 27302.00 | 5281.00   | 107.00  | 22.00 | 6.00   | 2.20  | < 1.50 | < 0.30 | < 0.03   |
| Punucapa 2 (6)                          | 35584.00 | 3766.00   | 115.00  | 47.40 | 6.90   | 6.20  | < 1.50 | 0.41   | < 0.03   |
| Río Calle-Calle 1 (7)                   | 6533.00  | 2396.00   | 217.00  | 45.00 | 4.50   | 4.60  | 2.10   | 0.65   | < 0.03   |
| <b>Muestreo realizado el 22-12-2004</b> |          |           |         |       |        |       |        |        |          |
| Fuerte San Luis 2 (8)                   | 28295.00 | 9714.00   | 152.00  | 22.20 | 13.80  | 7.88  | 2.20   | < 0.20 | < 0.03   |
| Nanihue 1 (10)                          | 22958.00 | 13697.00  | 59.60   | 13.20 | 4.44   | 1.86  | 1.60   | < 0.20 | < 0.03   |
| Nanihue 2 (11)                          | 30993.00 | 10330.00  | 58.10   | 11.70 | 3.76   | 1.83  | < 1.40 | < 0.20 | < 0.03   |
| Cudico 2 (14)                           | 9553.00  | 13903.00  | 94.90   | 15.60 | 4.98   | 0.48  | < 1.40 | < 0.20 | < 0.03   |
| Santa María 3 (17)                      | 27809.00 | 10578.00  | 93.10   | 13.60 | 9.12   | 5.71  | 1.50   | < 0.20 | < 0.03   |
| Pichoy 1 (18)                           | 31156.00 | 12979.00  | 85.20   | 16.90 | 11.90  | 6.07  | 2.10   | < 0.20 | < 0.03   |
| Cayumapu 2 (21)                         | 37152.00 | 7112.00   | 88.50   | 15.70 | 9.38   | 4.41  | 1.50   | 0.41   | < 0.03   |
| Cayumapu 3 (22)                         | 37723.00 | 9423.00   | 110.00  | 16.60 | 9.71   | 6.71  | 2.00   | 0.45   | < 0.03   |
| Cayumapu 4 (23)                         | 41717.00 | 9889.00   | 144.00  | 16.30 | 9.32   | 4.60  | 2.60   | < 0.20 | 0.06     |
| Chorocamayo (25)                        | 40407.00 | 5944.00   | 66.90   | 14.30 | 7.48   | 3.97  | < 1.40 | 0.30   | < 0.03   |
| Tambillo 1 (26)                         | 48338.00 | 7205.00   | 87.40   | 12.30 | 6.09   | 1.38  | < 1.40 | 0.41   | 0.05     |
| Punucapa 3 (30)                         | 36776.00 | 6239.00   | 71.00   | 16.10 | 7.97   | 5.01  | 3.10   | 0.90   | < 0.03   |
| Cabo Blanco (31)                        | 41920.00 | 7797.00   | 105.00  | 19.90 | 14.70  | 4.84  | 2.30   | 0.67   | < 0.03   |
| Río Valdivia (32)                       | 12564.00 | 5130.00   | 1051.00 | 20.60 | 5.26   | 4.95  | 8.00   | 0.51   | 0.06     |
| Río Calle-Calle 2 (33)                  | 10186.00 | 5232.00   | 152.00  | 19.20 | 11.20  | 3.73  | 2.90   | < 0.20 | < 0.03   |

Hierro y Manganeso fueron los dos metales con las concentraciones más altas, tanto en las plantas recolectadas en el Santuario (promedio total de ambos

muestreos=30958.95 mg / kg y 9034.79 mg / kg, respectivamente), como en aquellas recolectadas fuera del mismo (9761.00 mg / kg y 4252.67 mg / kg, respectivamente). En ambos muestreos se detectó una amplia variabilidad en las concentraciones de ambos metales en las plantas del Santuario. Las muestras recolectadas durante el 24 de Noviembre muestran que el Hierro varió entre 15371.00 y 35584.00 mg / kg, a la vez que durante el muestreo del 22 de Diciembre los rangos de variación estuvieron comprendidos entre 9553.00 y 48338.00 mg / kg (cf. Tabla 18 y Fig. 4). A su vez, el Manganeso varió entre 3766.00 y 12911.00 mg / kg durante el muestreo de Noviembre y entre 5944.00 y 13903.00 mg / kg durante el muestreo de Diciembre (cf. Tabla 18 y Fig. 4).

Los promedios de Hierro y Manganeso en las plantas del Santuario (30958.95 y 9034.79 mg / kg, respectivamente; n=19 para ambos metales) fueron significativamente más altos que los encontrados en las plantas recolectadas en los ríos Calle-Calle y Valdivia (9761.00 y 4252.67 mg / kg, respectivamente; n=3) (ANDEVA, F=21.04 y P=0.000 y F=6.54 y P=0.019 para Hierro y Manganeso, respectivamente).

Durante ambos muestreos las concentraciones más altas de Hierro en las plantas de Luchecillo se encontraron en las estaciones ubicadas al sur del río Cayumapu (Fig. 5 y 6). Durante el muestreo de Noviembre, las concentraciones más altas de Manganeso en las plantas de Luchecillo ocurrieron en una estación ubicada en ese río (estación 2) y en otra cerca del Fuerte San Luis (estación 1) (Fig. 7), a la vez que durante el muestreo de Diciembre las concentraciones más altas del mismo metal se registraron al norte del río Cayumapu (Fig. 8).

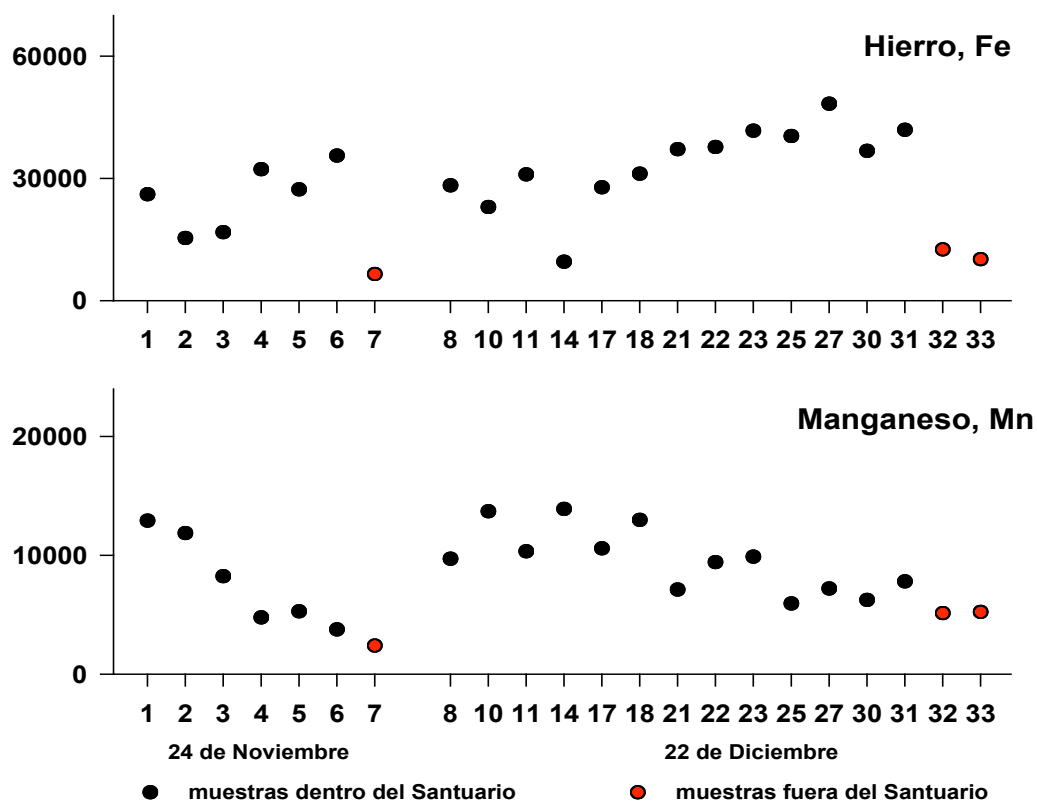


Figura 4. Variabilidad de la concentración de Hierro y Manganeso en las muestras de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes. Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tablas 13 y 14).

## Muestreo del 24 de Noviembre del 2004

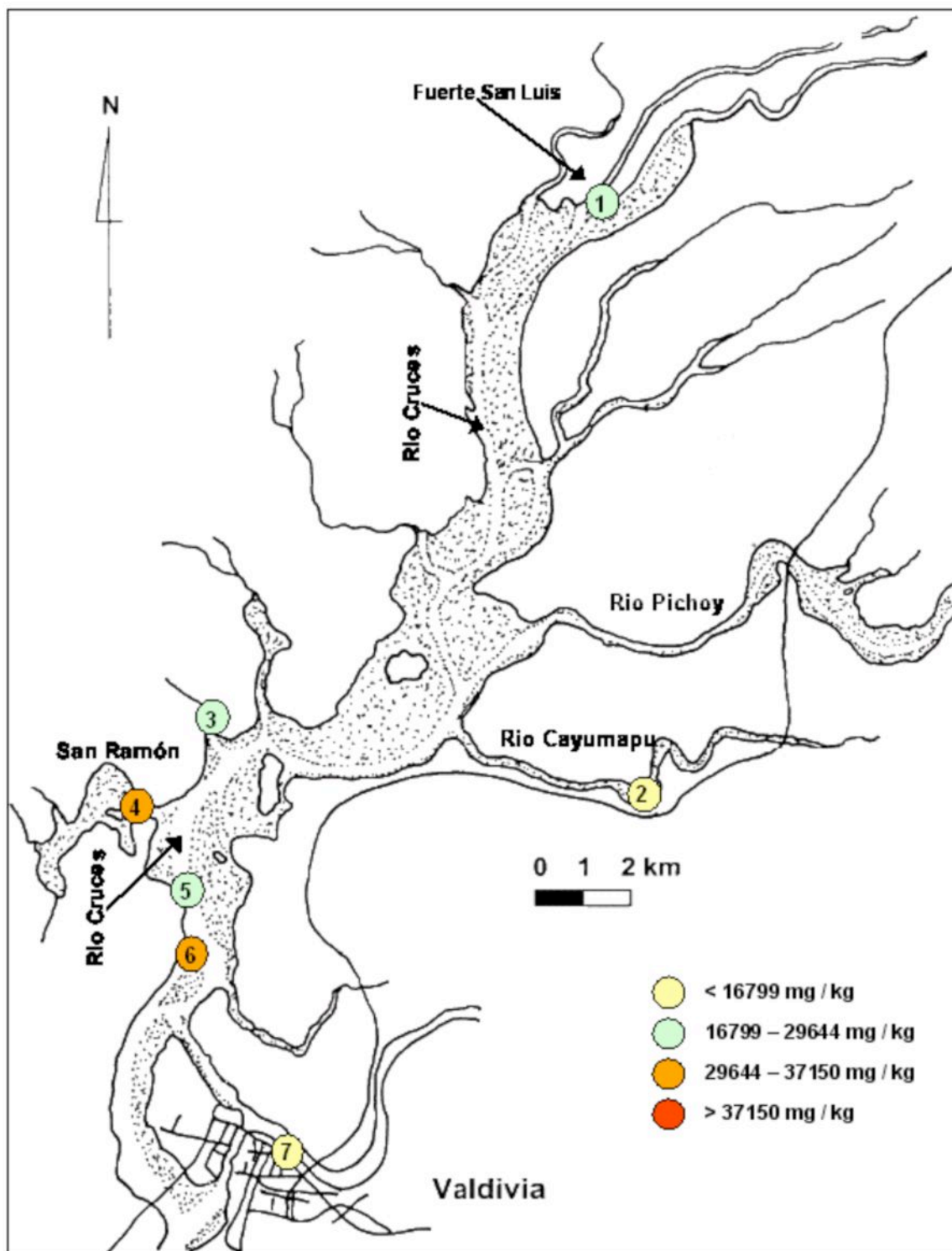


Figura 5. Variabilidad espacial de la concentración de Hierro en las muestras de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 24 de Noviembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 13).

## Muestreo del 22 de Diciembre del 2004

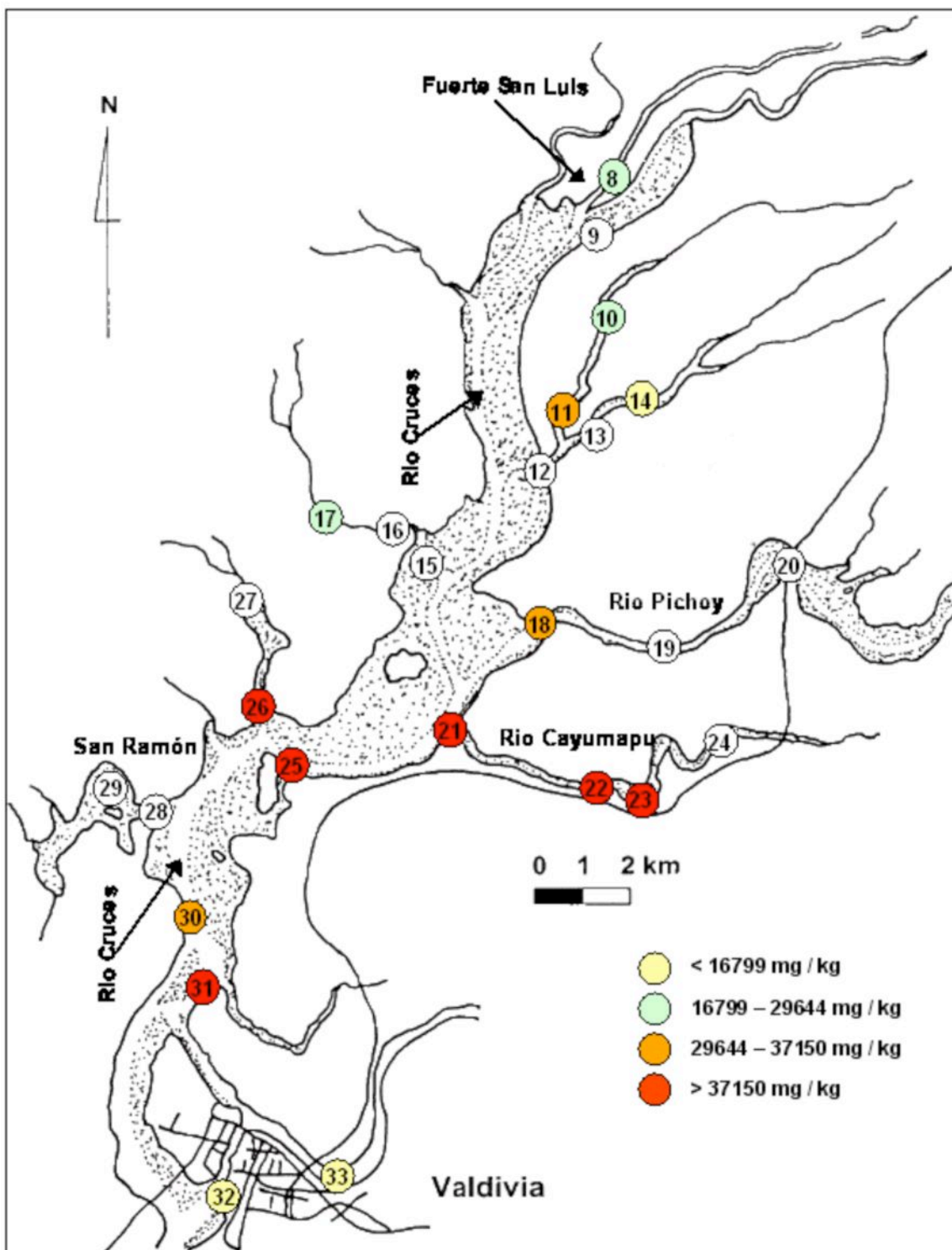


Figura 6. Variabilidad espacial de la concentración de Hierro en las muestras de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 22 de Diciembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 14). Se han dejado sin colorear los sitios donde no se encontró Luchecillo.

## Muestreo del 24 de Noviembre del 2004

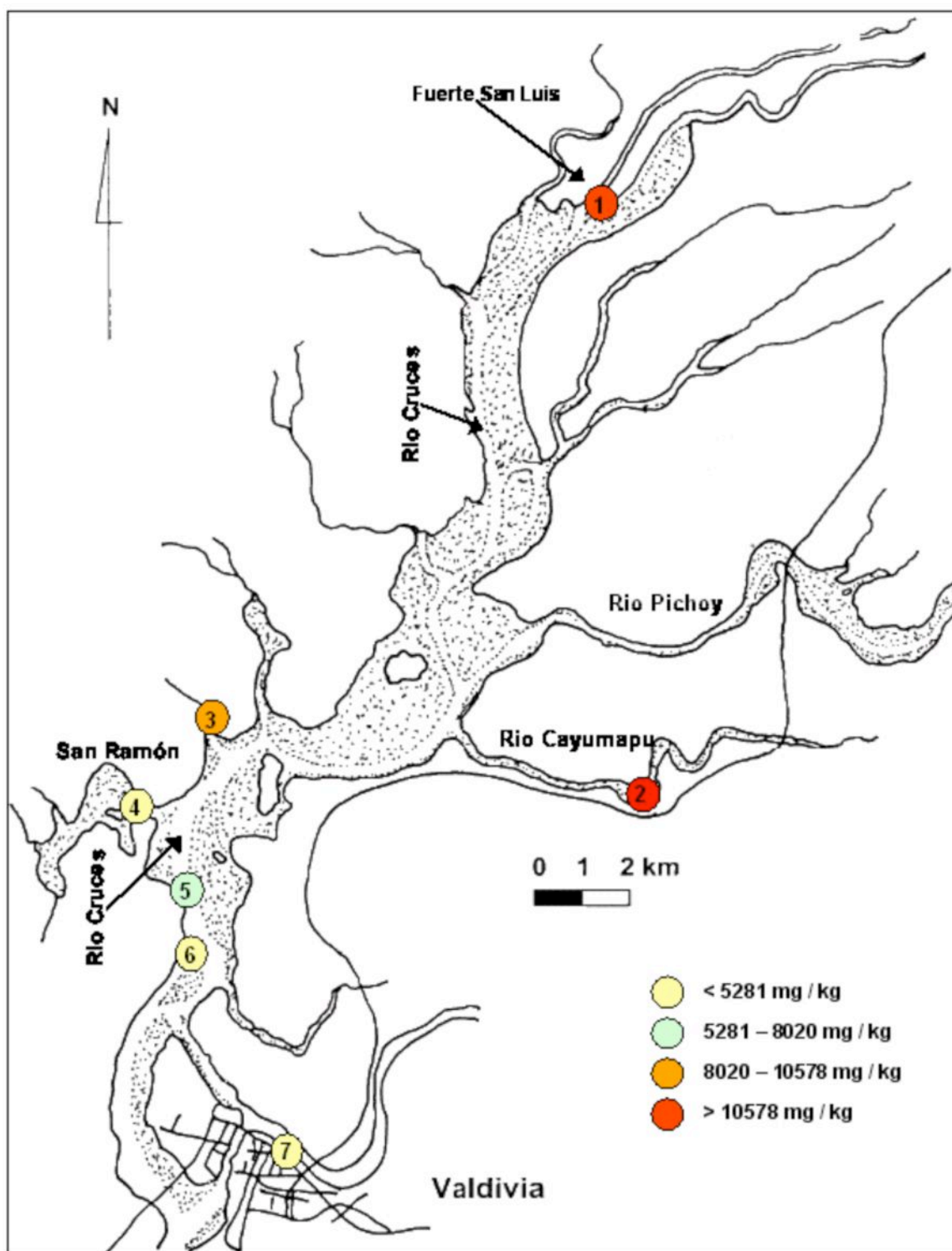


Figura 7. Variabilidad espacial de la concentración de Manganeso en las muestras de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 24 de Noviembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 13).

## Muestreo del 22 de Diciembre del 2004

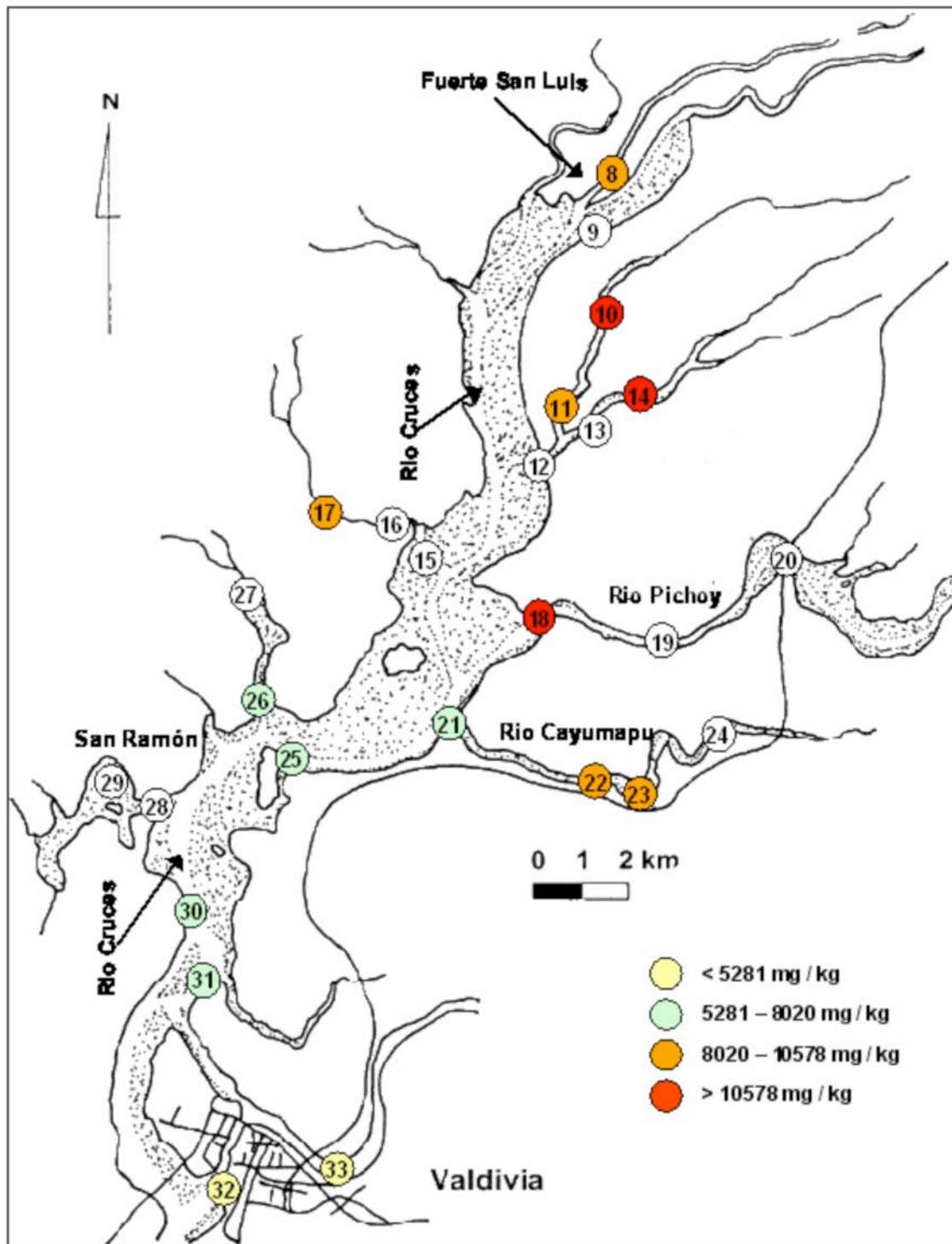


Figura 8. Variabilidad espacial de la concentración de Manganeso en las muestras de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 22 de Diciembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 14). Se han dejado sin colorear los sitios donde no se encontró Luchecillo.

Zinc y Cobre ocuparon el 3° y 4° lugar en el “ranking” de concentraciones de metales pesados en las plantas de Luchecillo recolectadas en el Santuario, con promedios totales para ambos muestreos de 129.46 mg / kg y 50.27 mg / kg, respectivamente. Las concentraciones de Zinc variaron entre 107.00 y 391.00 mg / kg y entre 58.1 y 144.00 mg / kg, durante el muestreo del 24 de Noviembre y del 22 de Diciembre, respectivamente (cf. Tabla 18 y Fig. 9). El Cobre varió entre 18.40 y 58.90 mg / kg y entre 11.70 y 22.20 mg / kg durante el primero y segundo de esos muestreos, respectivamente (cf. Tabla 18 y Fig. 9).

La concentración promedio de Zinc en plantas recolectadas fuera del Santuario (473.33 mg / kg; n=3) fue significativamente más alta que la de las plantas del Santuario (129.46 mg / kg; n=19) (ANDEVA, F=8.74 y P=0.008). Por otra parte, las concentraciones promedio de Cobre en plantas de Luchecillo recolectadas en el Santuario (23.27 mg / kg; n=19) no difirieron significativamente de las concentraciones de plantas recolectadas fuera del mismo (28.27 mg / kg; n=3) (ANDEVA, F=0.29 y P=0.593).



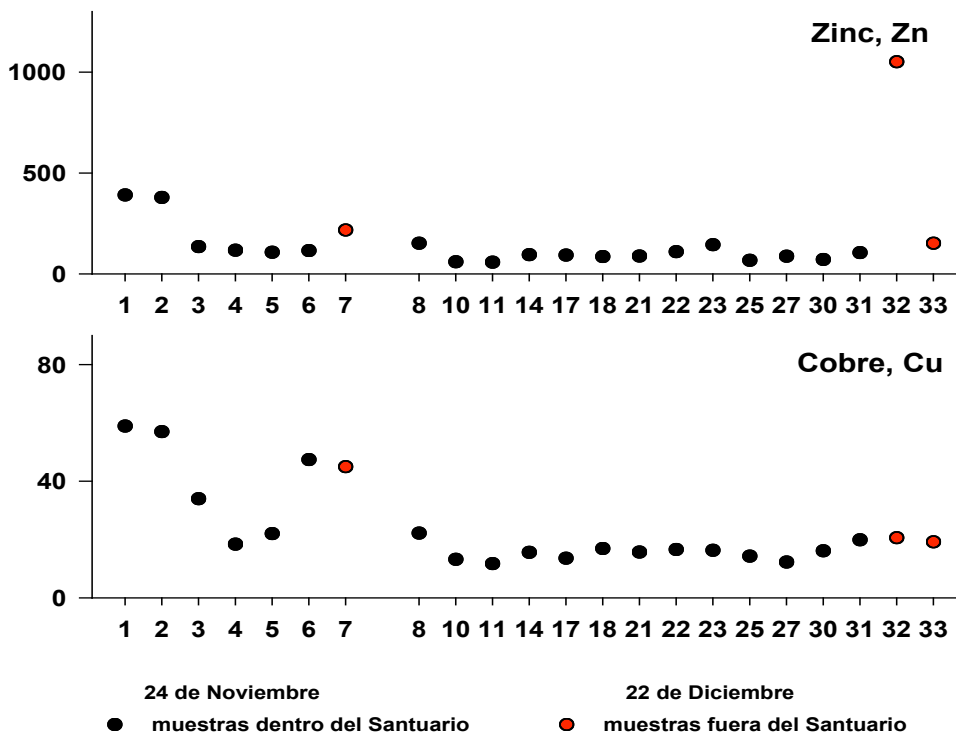


Figura 9. Variabilidad de la concentración de Zinc y Cobre en las muestras de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes. Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tablas 13 y 14).

El 5° y 6° lugar en el “ranking” de concentraciones de metales pesados en las plantas de Luchecillo recolectadas en el Santuario, lo ocupan el Níquel y Cromo con promedios totales para ambos muestreos de 9.27 mg / kg y 4.28 mg / kg, respectivamente. Las concentraciones de Níquel variaron entre 6.00 y 20.20 mg / kg y entre 3.76 y 14.70 mg / kg, durante el muestreo del 24 de Noviembre y del 22 de Diciembre, respectivamente (cf. Tabla 18 y Fig. 10). El Cromo varió entre 2.20 y 6.20 mg / kg y entre 0.48 y 7.88 mg / kg, durante el primero y segundo de esos muestreos, respectivamente (cf. Tabla 18 y Fig. 10).

La concentración promedio de Níquel y Cromo no difirieron significativamente al comparar las concentraciones de plantas de Luchecillo recolectadas en el Santuario (promedios para Níquel y Cromo= 9.27 y 4.28 mg / kg, respectivamente; n= 19) y fuera del mismo (promedios para Níquel y Cromo= 6.99 y 4.43 mg / kg, respectivamente; n= 3) (ANDEVA, F=0.83 y P=0.374 y F=0.02 y P=0.898, respectivamente).

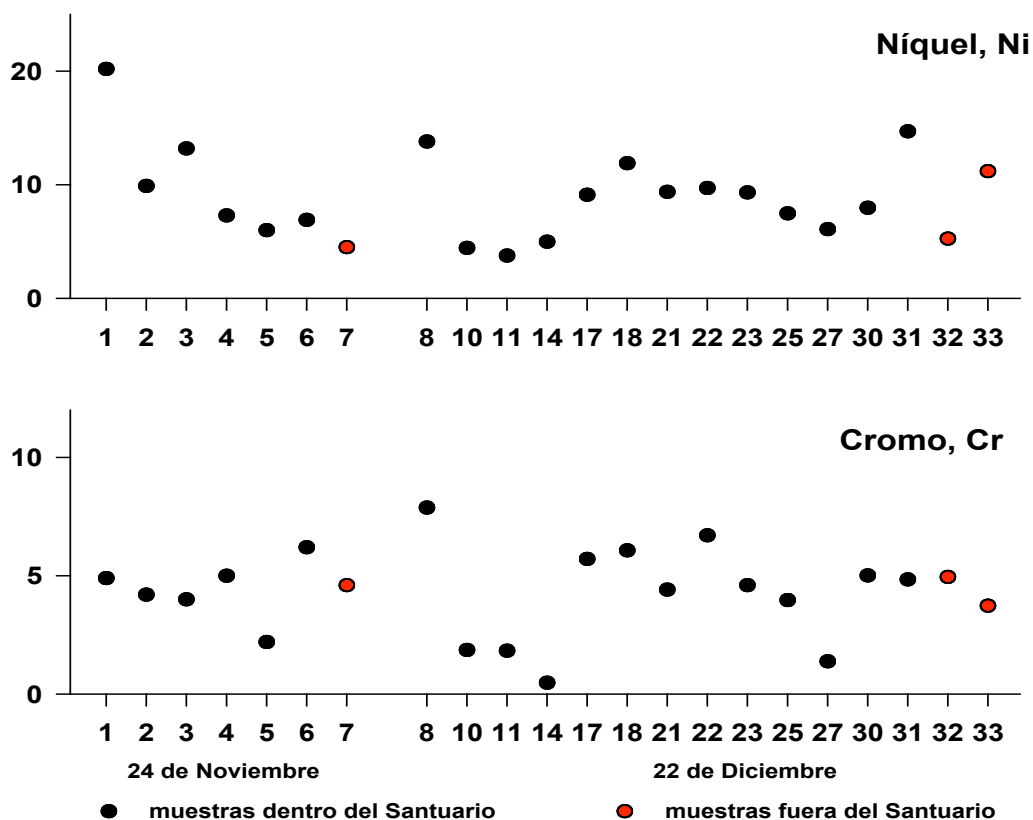


Figura 10. Variabilidad de la concentración de Níquel y Cromo en las muestras de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes. Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tablas 13 y 14).

Plomo, Cadmio y Mercurio fueron los metales pesados con las concentraciones más bajas; tal es así, que muchas de esas concentraciones estuvieron bajo el nivel de detección del método utilizado (cf. Tabla 18 y Fig. 11). Los promedios totales de Plomo, Cadmio y Mercurio (basados en los valores encontrados sobre el nivel de detección) en las plantas de Luchecillo recolectadas en el Santuario y para ambos muestreos fueron 2.04, 0.54 y 0.06 mg / kg, respectivamente.

Durante el muestreo del 24 de Noviembre, las plantas recolectadas en la estación 2 fueron las únicas que mostraron una concentración de Plomo (2.80 mg / kg) superior al nivel de detección; durante el muestreo del 22 de Diciembre, las concentraciones medibles de Plomo variaron entre 1.50 y 3.10 mg / kg (cf. Tabla 18 y Fig. 11).

Excluyendo uno y siete valores que estuvieron bajo el nivel de detección durante el primer y segundo muestreo, el Cadmio varió entre 0.41 y 0.90 mg / kg y entre 0.30 y 0.90 mg / kg durante el muestreo del 24 de Noviembre y del 22 de Diciembre, respectivamente (cf. Tabla 18 y Fig. 11).

Durante el muestreo del 24 de Noviembre, todas las concentraciones de Mercurio estuvieron bajo el nivel de detección del método utilizado; en el muestreo del 22 de Diciembre, las concentraciones medibles de Mercurio en las plantas del Santuario variaron entre 0.05 y 0.06 mg / kg (cf. Tabla 18 y Fig. 11).

La concentración promedio de Plomo en plantas recolectadas fuera del Santuario (4.33 mg / kg, n=3) fue significativamente más alta que la de las plantas del Santuario (2.04 mg / kg; n=12) (ANDEVA, F=6.46 y P=0.025). Por otra parte, las concentraciones promedio de Cadmio no difirieron significativamente al comparar las concentraciones de plantas de Luchecillo recolectadas en el Santuario (0.54 mg / kg, n=11) y fuera del mismo (0.58 mg / kg; n=2) (ANDEVA, F=0.06 y P=0.818). No se realizaron análisis estadísticos similares para las concentraciones de Mercurio debido al bajo número de datos sobre el nivel de detección del método.

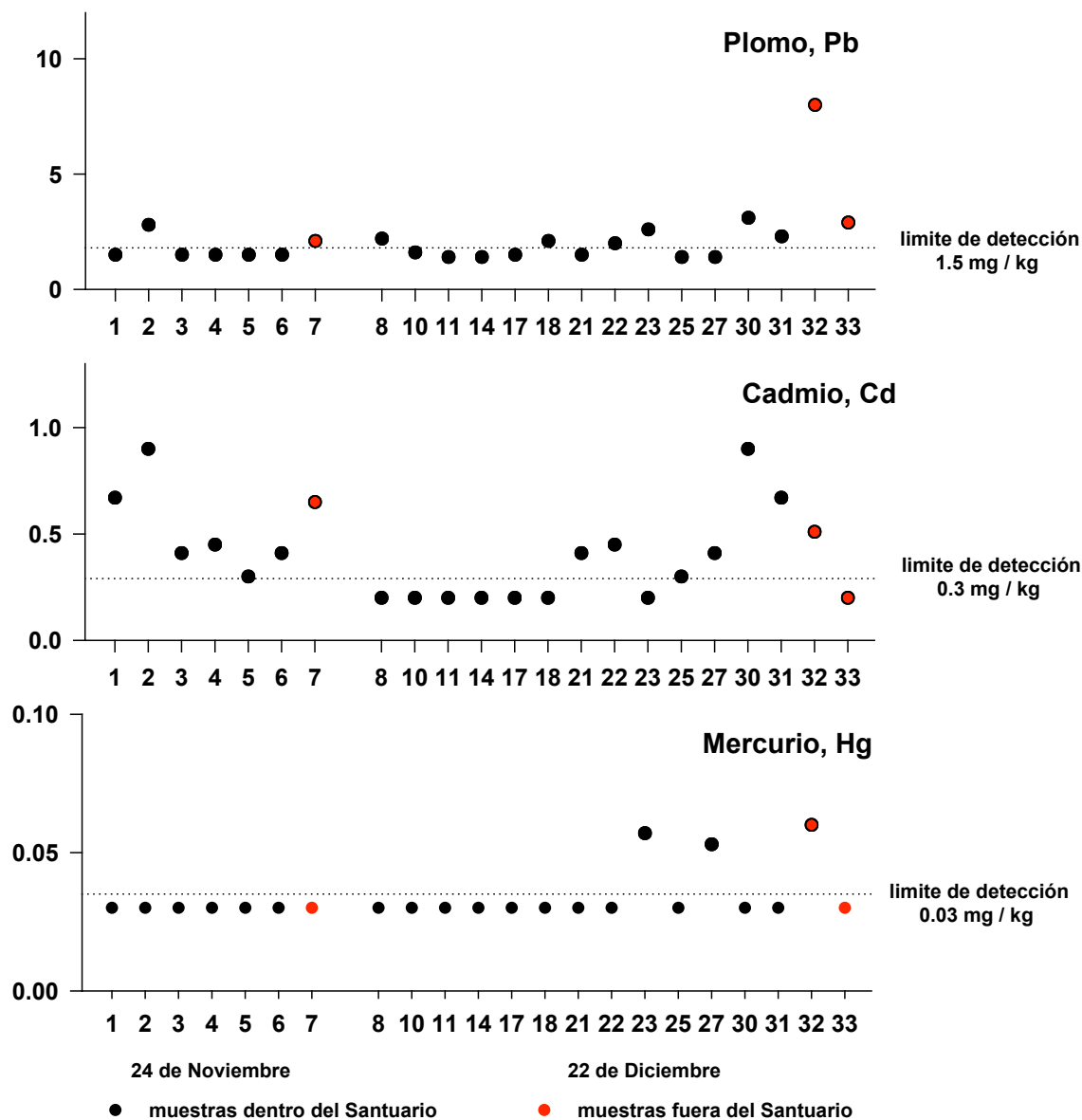


Figura 11. Variabilidad de la concentración de Plomo, Cadmio y Mercurio en las muestras de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes. Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tablas 13 y 14).

La Figura 12 muestra los valores de las proporciones entre concentraciones de metales pesados en plantas de Luchecillo recolectadas en el Santuario y plantas recolectadas fuera de este (plantas controles). Valores superiores a 1 indican mayores concentraciones en las primeras y *viceversa*. Las plantas del Santuario tuvieron mayores concentraciones de Hierro, Manganeso, Cobre y Níquel en

comparación a plantas recolectadas fuera del Santuario (3.17, 2.12, 1.78 y 1.33 veces más alto). Las concentraciones de Cromo y Cadmio fueron similares en ambos tipos de plantas (proporciones de 0.97 y 0.88, respectivamente), a la vez que las Zinc y Plomo fueron más bajas en las plantas del Santuario (0.27 y 0.42 respectivamente) en relación a las plantas controles.

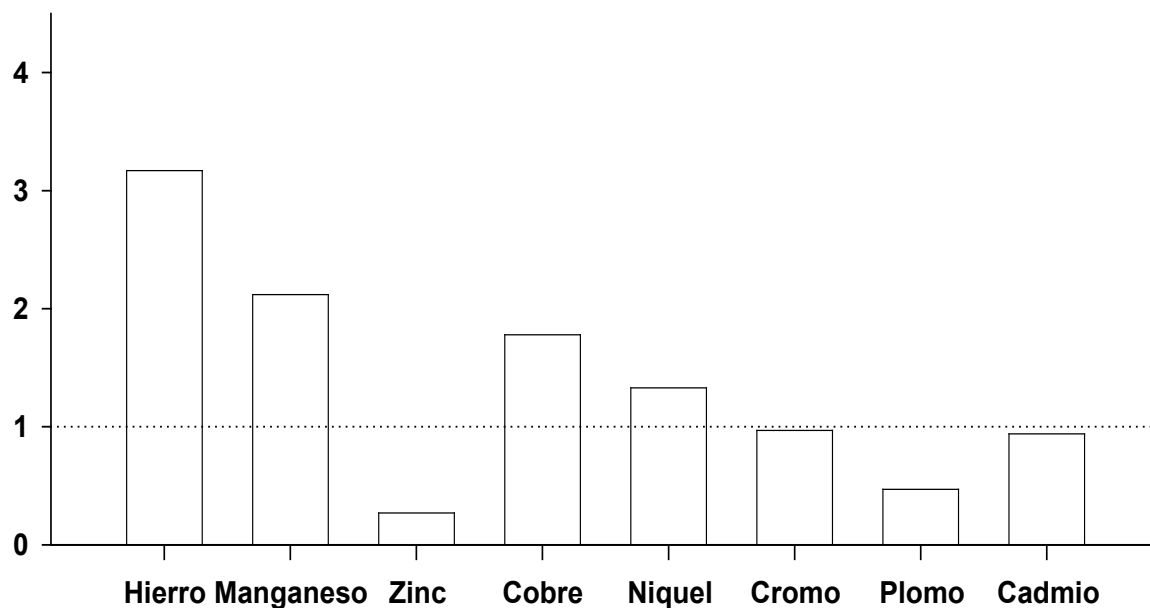


Figura 12. Proporciones de metales pesados en las plantas de Luchecillo. La línea de puntos corresponde al valor 1, el cual indica que la concentración promedio de un determinado metal es igual en las plantas ubicadas dentro y fuera del Santuario.

### Compuestos orgánicos

Durante el muestreo del 24 de Noviembre del 2004, no se detectaron fenoles, fenoles halogenados o pesticidas organoclorados (con un límite de detección de alrededor de 660  $\mu\text{g} / \text{kg}$ ). Sin embargo, se detectaron algunos compuestos xenobióticos como ftalatos y un compuesto asignado como Tributil fosfato (TBF). Este último compuesto (utilizado como antiespumante, intercambiador de calor y líquido hidráulico), fue detectado en las plantas recolectadas en la estación del Fuerte San Luis 1 (estación 1), Cayumapu 1 (estación 2), Frente San Ramón (estación 3) y Punucapa 1 (estación 5) (Fig. 13). El

TBF fue además identificado en aguas recolectadas de las raíces de *E. densa*, empleando el método extractivo SPME (microextracción en Fase Sólida).

Dentro de los compuestos detectados en las muestras de *Egeria densa*, recolectadas en las estaciones de Cayumapu 1 (estación 2), Frente San Ramón (estación 3), San Ramón 1 (estación 4) y Punucapa 1 (estación 5), están los compuestos naturales  $\alpha$ -pineno y limoneno (Fig. 13).

Durante el muestreo del 22 de Diciembre del 2004, algunos compuestos detectados con más de un 90% de superposición contra su espectro de masa de la base de datos, fueron los ester fosfatos. Estos se detectaron en las plantas recolectadas en Santa María 3 (estación 17), Pichoy 1 (estación 18), Cayumapu 2 (estación 21), Punucapa 3 (estación 30), río Valdivia (estación 32) y río Calle-Calle 2 (estación 33). Los compuestos  $\alpha$ -pineno y limoneno fueron detectados en las plantas recolectadas en las estaciones del Fuerte San Luis 2 (estación 8), Nanihue 1 (estación 10), Chorocamayo (estación 25) y Punucapa 3 (estación 30). El TBF, se encontró en todas las muestras de Luchecillo exceptuando las recolectadas en la estación de Tambillo 1 (estación 26). Sin embargo, se presentó en niveles relativamente más altos en las plantas del Santuario que en las recolectadas fuera del mismo (i.e. ríos Valdivia y Calle-Calle, estaciones 32 y 33) (Fig. 14). Esto permitiría inferir que dicho componente pudiera ser un xenobiótico (i.e. compuesto derivado de alguna actividad antrópica); sin embargo, se debería investigar con mayor detalle su identificación.

## Muestreo del 24 de Noviembre del 2004

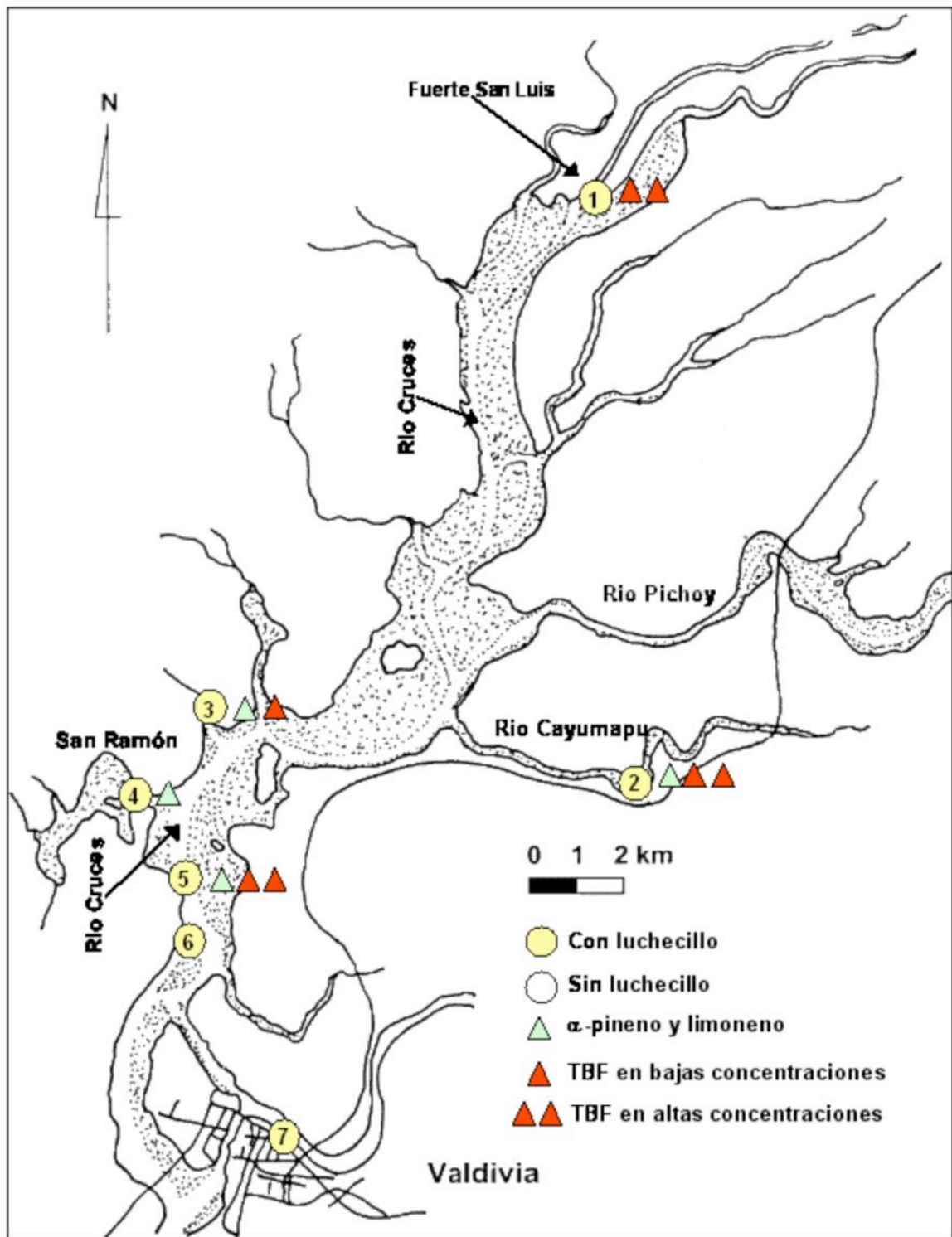


Figura 13. Presencia de algunos compuestos orgánicos detectados en muestras de *Egeria densa* (Luchecillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 22 de Noviembre del 2004). Los numeros hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 13).

## Muestreo del 22 de diciembre del 2004

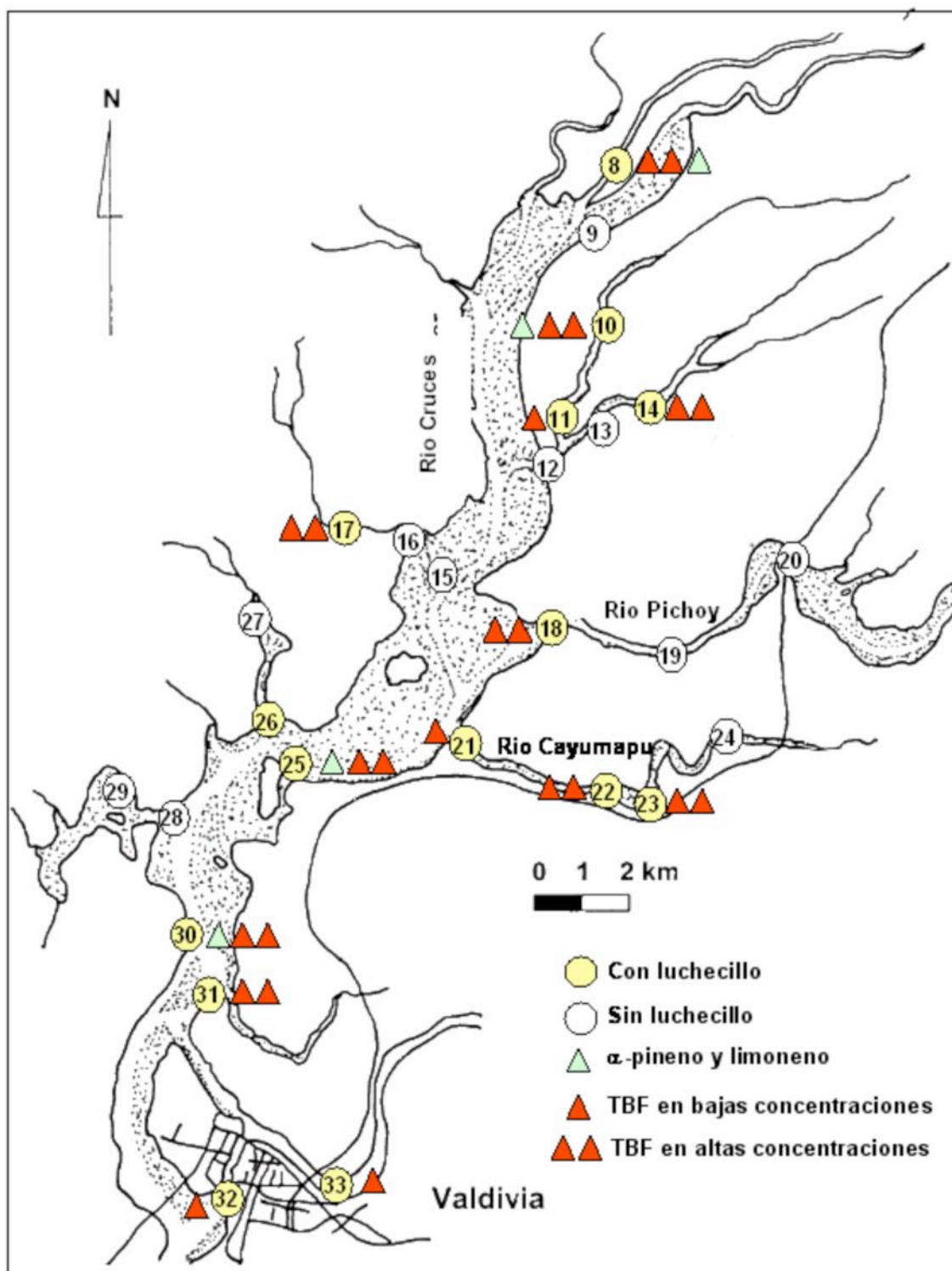


Figura 14. Presencia de algunos compuestos orgánicos detectados en muestras de *Egeria densa* (Lucheillo) recolectadas en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 24 de Diciembre del 2004). Los numeros hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 14).



## Referencias

1. NCh 2638.Of 2001 Productos hidrobiológicos-Determinación de cadmio-Método espectrofotométrico de absorción atómica por llama.
2. NCh 2751.c 2002 Productos hidrobiológicos- Determinación de plomo mediante espectrometría de absorción atómica por llama.
3. NCh 2667.Of 2001 Instituto Nacional de Normalización INN Chile.
4. Pinochet, D., Aguirre, J. & Quiroz, E. 2002. Estudio de la lixiviación de cadmio, mercurio y plomo en suelos derivados de cenizas volcánicas. *Agro Sur* 30: 51-58.
5. Zumelzu, E.,Cabezas, C., Opitz, O., Quiroz, E., Goyos, L. & Parada A. 2003. Microstructural characterisation and corrosion behavior of high-chromium cast iron alloys in sugar media. *Protection of Metals* 39: 183-188.
6. Rivas, B., Quilodrán, B. & Quiroz, E. 2003. Removal Properties of Crosslinked Poly (2-acrylamido Glycolic Acid) for Trace Heavy Metal Ions. Effect of pH, temperature, contact time, salinity on the adsorption behaviour. *Journal Applied of Polymer Science* 88: 2614-2621.
7. Rivas, B., Quilodrán, B. & Quiroz, E. 2004. Trace Metal Ion Retention Properties of Crosslinked Poly( 4-Vinylpyridine) and Poly (Acrylic Acid). *Journal Applied of Polymer Science* 92: 2908-2916.
8. U.S. EPA 8270C (1996). Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). U.S. EPA SW-846 On Line.
9. U.S. EPA 3650B (1996). Acid-Base Partition Cleanup. U.S. EPA SW-846 On Line.
10. U.S. EPA 3570 (2000). Microscale Solvent Extraction (MSE) U.S. EPA SW-846 On Line.

### 5.4.2. Estudios experimentales

#### 5.4.2.1. Metodologías

##### Experimentos de laboratorio

Los resultados anteriormente analizados, muestran altas concentraciones de algunos metales (e.g. Hierro, Manganeso y Cobre) en las plantas de Luchecillo del Santuario y humedales adyacentes. Sin embargo, ese hecho por sí solo no puede explicar las causas de mortalidad de *Egeria densa* en el área. Fue necesario entonces realizar experimentos de laboratorio tendientes a evaluar el efecto de concentraciones altas de Hierro, Manganeso y Cobre sobre la sobrevivencia y estructuras de plantas sanas de *Egeria densa*. Para ello se recolectaron ramas apicales de Luchecillo de 10 cm de longitud, desde las orillas del estuario del río

Calle-Calle, donde el crecimiento y estructuras anatómicas de *Egeria densa* evidencian que esas plantas están en condiciones normales. El diseño experimental incluyó los siguientes tratamientos (T), cada uno con tres réplicas:

T1: plantas mantenidas en aguas del Santuario + 2 mg / L de sal de sulfato de Hierro

T2: plantas mantenidas en aguas del Santuario + 20 mg / L de sal de sulfato de Hierro

T3: plantas mantenidas en aguas del Santuario + 2 mg / L de sal de sulfato de Cobre

T4: plantas mantenidas en aguas del Santuario + 20 mg / L de sal de sulfato de Cobre

T5: plantas mantenidas en aguas del Santuario + 2 mg / L de sal de sulfato de Manganeso

T6: plantas mantenidas en aguas del Santuario + 20 mg / L de sal de sulfato de Manganeso

T7: plantas mantenidas en aguas del Santuario (Cabo Blanco)

T8: plantas mantenidas en aguas del río Calle-Calle

Los tratamientos T1 y T2, T3 y T4 y T5 y T6, permitieron evaluar el efecto de diferentes concentraciones de Hierro, Cobre y Manganeso sobre los tallos y hojas de Luchecillo. La comparación de los resultados de esos tratamientos con los del T7, permitieron evaluar el efecto del incremento en las concentraciones de esos metales, sobre las concentraciones actuales que ocurren en las aguas del Santuario. A su vez, la comparación de los resultados de los tratamientos T7 y T8, permitieron analizar el eventual efecto de las condiciones actuales de las aguas del Santuario, sobre plantas sanas de Luchecillo. Se utilizan altas concentraciones de sales a fin de evaluar las respuestas de las plantas a toxicidad aguda.

Cada réplica estuvo representada por un frasco de vidrio de un litro de capacidad (Fotografía 10). Los frascos experimentales se mantuvieron en una cámara con temperatura ambiente controlada (22°C) y con un ciclo luz-oscuridad

de 12-12 horas. El experimento se instaló el 17 de Enero del 2005; posteriormente y cada dos días por un período de 4 días se retiraron muestras de las plantas experimentales, para luego proceder al examen de las mismas incluyendo aspectos como porcentaje células muertas, hojas verdes y presencia de antocianos



Fotografía 10. Vista de los frascos donde se mantuvieron plantas de Luchecillo para evaluar el efecto de diferentes concentraciones de Hierro, Manganeso y Cobre.

### **Experimentos de terreno**

Aún cuando los resultados de los experimentos de laboratorio, muestren que las plantas de Luchecillo sometidas a diferentes concentraciones experimentales de metales pesados, son afectadas de modo significativo por estos elementos, no puede asumirse que una condición de toxicidad esté actualmente presente en las aguas del Santuario. Para evaluar tal posibilidad, se recolectaron muestras de Luchecillo de un sector de la ribera del estuario del río Calle-Calle (sector Las Animas). En el laboratorio, se cortaron ramas de 10 cm de longitud con tijeras plásticas. Tres de esas ramas se instalaron en cada una de 40 mallas plásticas conteniendo una estructura plástica interna para evitar el colapso de las mismas (Fotografía 11). Se instalaron 20 mallas en la ribera de origen, a la vez que otras 20 se ubicaron en la ribera de la estación 31, Cabo Blanco (Fig. 3), localizada dentro del Santuario. La instalación de las mallas se realizó el 18 de Enero;

posteriormente y cada dos días por un período de 10 días, se retiraron al azar tres mallas de cada lugar. En el laboratorio se examinaron las plantas, incluyendo aspectos como porcentaje de hojas verdes, células muertas y presencia de antocianos, presencia de epífitos y de grumos rojos sobre las hojas y tamaño de las ramas experimentales.



Fotografía 11. Vista de las mallas y su estructura plástica interna donde se ubicaron las plantas experimentales de Luchecillo.

## 5.4.2. Resultados

### Experimentos de laboratorio

La Tabla 19 muestra que dos días después de iniciados los experimentos, las plantas de Luchecillo sometidas a concentraciones experimentales de 20 mg / L de sales de Hierro y Cobre (T2 y T4) presentan el 100% de sus células muertas. Concentraciones experimentales de 2 mg / L de sales de Cobre (T3) también resultan en un alto porcentaje de células muertas (60% como promedio), en relación a plantas sometidas a concentraciones similares de sales de Hierro (T1) y Manganeso (T5 y T6). Esta Tabla muestra también que las plantas mantenidas en aguas del Santuario (T7) y aguas del río Calle-Calle (T8) tuvieron un porcentaje de células muertas (promedios de 16.7 y 36.7%, respectivamente), que fueron más

altos que los calculados para aquellos tratamientos con concentraciones experimentales de sales de Hierro y Manganeso de 2 mg / L y de sales de manganeso de 20 mg / L. Las plantas de Luchecillo del tratamiento 4 (20 mg / L de sales de Cobre) no tuvieron hojas verdes al cabo de dos días de iniciados los experimentos, a la vez que el porcentaje de hojas verdes fue de 33% en las plantas del tratamiento 2 (20 mg / L de sales de Hierro). En el resto de los tratamientos, el porcentaje de hojas verdes fue superior al 70%. En general, el porcentaje de células con antocianos fue bajo en las plantas de todos los tratamientos ( $\leq 1\%$ ), lo que indica que las plantas experimentales no sufrieron estrés lumínico.

Cuatro días después de iniciados los experimentos, el porcentaje de células muertas aumentó en todos los tratamientos donde había plantas con células vivas (Tabla 19). Entre los que incluyeron la adición experimental de sales, las plantas que mostraron los incrementos más altos en el porcentaje promedio de células muertas fueron aquellas de los tratamientos 5 y 6 (2 y 20 mg / L de sal de Manganeso, respectivamente); las que aumentaron desde 3.3 y 6.7% a 36.7 y 53.3% de células muertas, respectivamente. Altos incrementos porcentuales de células muertas ocurrieron también en aquellas plantas del tratamiento 7 (aguas del Santuario; de un promedio de 16.7 a 100% de células muertas) y del tratamiento 8 (aguas del río Calle-Calle; de un promedio de 36.7 a 70 % de células muertas). El porcentaje de plantas de Luchecillo con hojas verdes disminuyó de un promedio de 33% a 0%, al cabo de cuatro días en el tratamiento donde se adicionaron 20 mg / L de sales de Hierro (T2). Por el contrario, las plantas de Luchecillo sometidas a las concentraciones experimentales más bajas de sales de Hierro y Cobre (T1 y T3, respectivamente), así como aquellas sometidas a las dos concentraciones de sales de Manganeso (T5 y T6, respectivamente) y las mantenidas en aguas del río Calle-Calle (T8), mostraron al cabo de cuatro días porcentajes similares de hojas verdes a aquellos calculados al cabo de dos días. Similar a lo observado, al cabo de dos días de iniciados los experimentos, el porcentaje de células con antocianos fue igual o inferior al 1% al final del cuarto día (Tabla 19).

Los resultados de los experimentos mostraron que si bien las plantas de Luchecillo fueron afectadas por la adición experimental de diferentes concentraciones de sales de Hierro, Cobre y Manganeso, lo fueron en mayor medida por la concentración más alta de Hierro (20 mg / L) y por las dos de Cobre (2 y 20 mg / L) (Tabla 19). Las plantas experimentales mostraron características similares a las características de las plantas de Luchecillo encontradas en el Santuario (principalmente por el color café de las mismas). Estos resultados permiten concluir que estos metales, presentes en altas concentraciones en las plantas del Santuario afectaron significativa y negativamente las plantas de Luchecillo y por lo tanto fueron responsables de la muerte masiva de los individuos de esta especie.

Después de dos días de iniciado el experimento, el porcentaje de células muertas en plantas de Luchecillo mantenidas en aguas del Santuario sin adición de sales (T7), fue inferior que el de plantas mantenidas en aguas del río Calle-Calle sin adición de sales (T8) (Tabla 19). Después de cuatro días de iniciados los experimentos, el 100% de las células de las plantas de Luchecillo estuvieron muertas en el tratamiento 7, en tanto que en el tratamiento 8, el porcentaje de células muertas fue de un 70%. Por otra parte el porcentaje de hojas verdes fue similar en ambos tratamientos y en ambas fechas de evaluación (Tabla 19). Estos resultados, sugieren que las aguas del Santuario aún ejercen efectos negativos sobre las plantas de Luchecillo, resultados concordantes con los registrados en los experimentos de laboratorio.

Tabla 19. Características de las plantas de Luchecillo mantenidas en aguas del Santuario con diferentes concentraciones de sales de Hierro, Cobre y Manganeseo (T1 a T6) y en aguas del Santuario y del río Calle-Calle sin adición de sales (T7 y T8). La instalación del experimento se realizó el 17 de Enero del 2005.

| <b>Tratamiento</b>             | <b>Días después del inicio</b> | <b>Células muertas (%)</b> | <b>Hojas verdes (%)</b> | <b>Células con antocianos (%)</b> |
|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------------------|
| T1 (Hierro 2 mg / L)           | 2                              | 3.3 (5.8)                  | 83.3 (28.9)             | 1.0 (0.0)                         |
| T2 (Hierro 20 mg / L)          | 2                              | 100.0 (0.0)                | 33.3 (57.7)             | 0.3 (0.6)                         |
| T3 (Cobre 2 mg / L)            | 2                              | 60.0 (52.9)                | 75.0 (43.3)             | 0.0 (0.0)                         |
| T4 (Cobre 20 mg / L)           | 2                              | 100.0 (0.0)                | 0.0 (0.0)               | 0.0 (0.0)                         |
| T5 (Manganeseo 2 mg / L)       | 2                              | 3.3 (5.8)                  | 100.0 (0.0)             | 0.7 (0.6)                         |
| T6 (Manganeseo 20 mg / L)      | 2                              | 6.7 (11.5)                 | 100.0 (0.0)             | 0.3 (0.6)                         |
| T7 (Aguas del Santuario)       | 2                              | 16.7 (28.9)                | 100.0 (0.0)             | 0.7 (0.6)                         |
| T8 (Aguas del río Calle-Calle) | 2                              | 36.7 (55.1)                | 83.3 (28.9)             | 0.7 (0.6)                         |
| T1 (Hierro 2 mg / L)           | 4                              | 13.3 (11.5)                | 83.3 (28.9)             | 1.0 (0.0)                         |
| T2 (Hierro 20 mg / L)          | 4                              | 100.0 (0.0)                | 0.0 (0.0)               | 0.0 (0.0)                         |
| T3 (Cobre 2 mg / L)            | 4                              | 83.3 (28.9)                | 83.3 (28.9)             | 0.0 (0.0)                         |
| T4 (Cobre 20 mg / L)           | 4                              | 100.0 (0.0)                | 0.0 (0.0)               | 0.0 (0.0)                         |
| T5 (Manganeseo 2 mg / L)       | 4                              | 36.7 (32.1)                | 100.0 (0.0)             | 0.7 (0.6)                         |
| T6 (Manganeseo 20 mg / L)      | 4                              | 53.3 (41.6)                | 100.0 (0.0)             | 1.0 (0.0)                         |
| T7 (Aguas del Santuario)       | 4                              | 100.0 (0.0)                | 83.3 (28.9)             | 0.3 (0.6)                         |
| T8 (Aguas del río Calle-Calle) | 4                              | 70.0 (52.0)                | 83.3 (28.9)             | 0.3 (0.6)                         |

### **Experimentos de terreno**

Las características de las ramas de Luchecillo mantenidas durante 10 días en las riberas de Cabo Blanco (lugar dentro del Santuario) y río Calle-Calle (fuera del Santuario), se muestran en la Tabla 20. Esas características fueron lo suficientemente diferentes entre ambos lugares, como para concluir que las condiciones ambientales ocurrentes en las aguas del río Cruces (al tiempo de realización del experimento), afectaron de forma negativa a las plantas originalmente sanas y provenientes de la ribera del Calle-Calle. A modo de ejemplificar esta conclusión se detallan algunas comparaciones: i) el porcentaje de hojas verdes de las plantas mantenidas en Cabo Blanco varió entre 68.3 y 86.7%;

tal porcentaje varió entre 91.7 y 100% en las plantas del río Calle-Calle, ii) las primeras de estas plantas mostraron un porcentaje mayor de células con antocianos (indicadores de estrés lumínico) (hasta 90%) que las plantas del río Calle-Calle (hasta aproximadamente un 32%), iii) la presencia de epífitos y grumos rojos en las hojas fue mayor en las plantas de Cabo Blanco, iv) al final del período experimental (10 días) las plantas del sitio fuera del Santuario habían crecido en promedio aproximadamente 2.5 cm más que las mantenidas en el Santuario (Cabo Blanco), y v) de modo similar a lo anterior, al final del experimento, las ramas del Calle-Calle alcanzaron un diámetro mayor (promedio de 5.1 cm) que el alcanzado por las plantas de Cabo Blanco (promedio de 3.2 cm) (Tabla 20).

Como se mencionó anteriormente, las características actuales de las aguas del Santuario afectaron negativamente a plantas sanas instaladas en su ribera. Tales condiciones están probablemente relacionadas a la alta turbidez de esas aguas, lo que afecta el proceso de fotosíntesis y explica los porcentajes más altos de antocianos en las plantas instaladas en Cabo Blanco. Por otra parte, los mismos resultados permiten concluir que las actuales aguas del Santuario no tienen la toxicidad de las aguas que probablemente diezmaron las poblaciones de *Egeria densa* durante el año 2004. Esto, debido a que durante este experimento de terreno no se observaron las altas mortalidades de plantas observadas en los experimentos de laboratorio, donde se adicionaron concentraciones de metales superiores a las naturalmente ocurrientes en esas aguas.



Tabla 20. Características de las ramas experimentales de Luchecillo en los sitios experimentales de Cabo Blanco (CB) y Calle-Calle (CC) (ver texto). La instalación de los experimentos se realizó el 18 de Enero del 2005.

| Característica             |    | 18/01/05 | 20/01/05 | 22/01/05 | 24/01/05 | 26/01/05 | 28/01/05 |
|----------------------------|----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Hojas verdes (%)           | CB | 100.0    | 78.3     | 88.3     | 71.7     | 68.3     | 86.7     |
|                            | CC | 100.0    | 97.3     | 96.6     | 91.7     | 98.3     | 100.0    |
| Células muertas (%)        | CB | 0.0      | 0.0      | 11.7     | 4.3      | 6.7      | 6.0      |
|                            | CC | 0.0      | 0.0      | 7.3      | 16.7     | 3.3      | 1.7      |
| Células con antocianos (%) | CB | 0.0      | 4.3      | 86.7     | 25.0     | 90.0     | 60.0     |
|                            | CC | 0.0      | 0.0      | 11.7     | 13.3     | 28.3     | 31.7     |
| Epífitos en las hojas      | CB | ausente  | ausente  | ausente  | ausente  | presente | ausente  |
|                            | CC | ausente  | ausente  | presente | ausente  | presente | presente |
| Grumos rojos en las hojas  | CB | ausente  | ausente  | ausente  | ausente  | ausente  | ausente  |
|                            | CC | ausente  | ausente  | presente | presente | presente | ausente  |
| Tamaño de las ramas        | CB | 10.0 cm  | 10.0 cm  | 10.2 cm  | 11.2 cm  | 13.5 cm  | 13.5 cm  |
|                            | CC | 10.0 cm  | 10.0 cm  | 10.5 cm  | 10.8 cm  | 13.9 cm  | 16.0 cm  |

## 5.5. Análisis de microscopía electrónica de barrido (MEB) en plantas de *Egeria densa* del Santuario y lugares adyacentes

### 5.5.1. Metodologías

Parte de las muestras de Luchecillo recolectadas en las estaciones indicadas en la Figura 3, se lavaron en agua destilada a fin de eliminar toda la suciedad propia de la operación de recolección.

Muestras destinadas a análisis de microscopía se adhirieron a porta-especímenes de carbón y se cubrieron con una microcapa de carbón producida al vacío por un evaporizador de carbón (Edwards). Todas las muestras se observaron a través del MEB siendo microanalizadas a una tensión de 15 Kv.

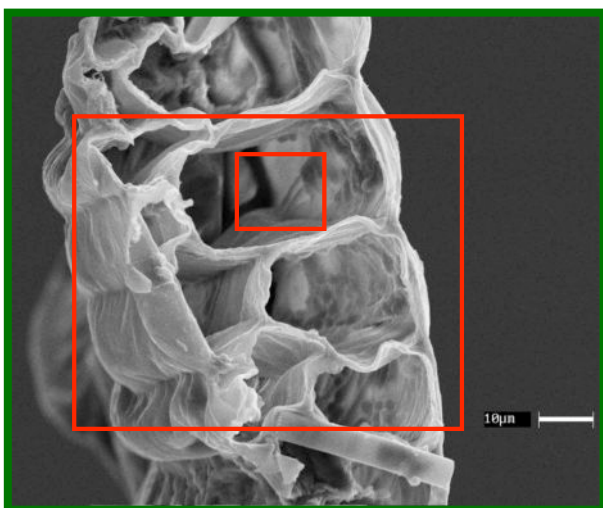
Para los estudios de microanálisis (EDS) de elementos metálicos brutos, se tomaron muestras de tallos y hojas de Luchecillo. Estas se lavaron con agua destilada, trituraron y maceraron en 500 microlitros de agua destilada. La mezcla resultante se sonicó a través de una varilla de ultrasonido en medio frío. Finalmente, los extractos de Luchecillo fueron centrifugados a 1500 rpm por 5 minutos. Del líquido sobre-nadante se tomaron 100 microlitros los que se dejaron secar a 37°C por 12 horas. Se realizaron dos tipos de microanálisis por rayos X. Para el estudio de microanálisis (EDS), se fijaron las plantas a temperatura ambiente por 12 horas en una mezcla fijadora con formalina al 10%, ácido acético y alcohol (FAA), a fin de preservar su naturaleza estructural. Luego de un breve lavado en agua destilada, las muestras se disecaron y posteriormente se secaron a 37°C por 12 horas.

En las muestras se realizaron dos tipos de microanálisis por rayos X:

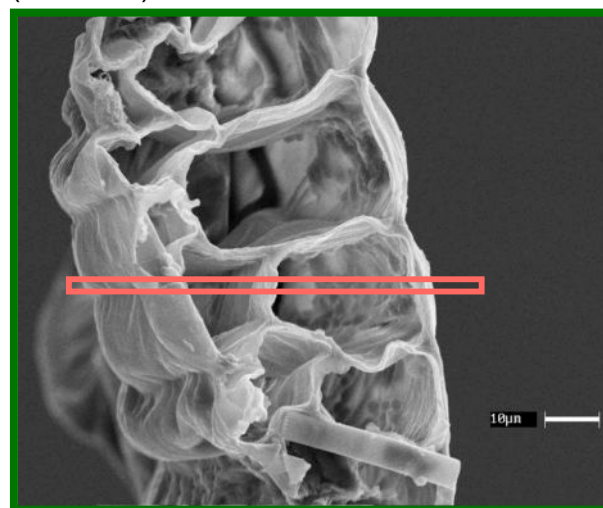
- i) Microanálisis de áreas, donde el haz de electrones barre o recorre un área determinada sobre la muestra y cuya superficie de análisis, respecto de la muestra, dependerá de la magnificación o del aumento con el que se realice el microanálisis.
- ii) Microanálisis lineales (“line scan”), donde previamente se fija una línea de barrido expresada en micrones de longitud y que determina un área lineal específica para ser micro analizada. Este último análisis entrega una idea referencial de la localización y distribución morfológica de los elementos químicos de una muestra. Los valores numéricos, en mayor o menor grado, dependerán del azar respecto si la línea de microanálisis cubra un área lineal dónde dicho (s) elemento (s) este (n) más o menos concentrado (s).

Las siguientes fotografías ilustran ambos tipos de microanálisis. En las gráficas de los espectros, el eje de la coordenada Y representa el área lineal del microanálisis expresado en micrones. El eje de coordenada X muestra valores numéricos a modo de una escala referencial de concentración con magnitudes numéricas, que dependerán de cada microanálisis y será específica para cada elemento identificado en el microanálisis.

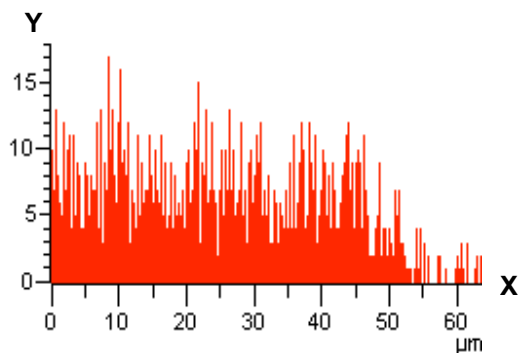
Microanálisis por áreas



Microanálisis lineal (line scan)



Escala referencial de concentraciones



## **5.5.2. Resultados**

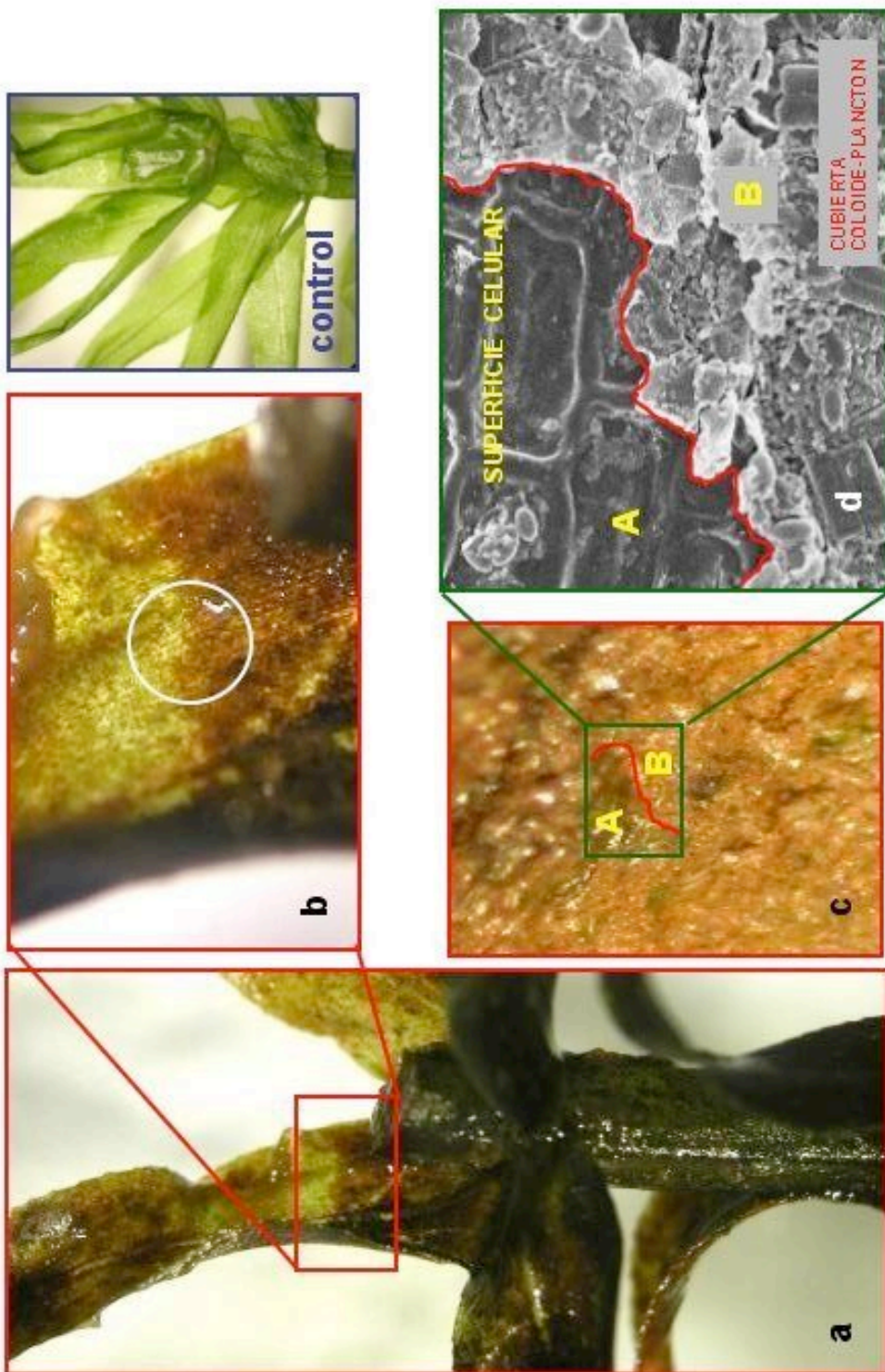
### **5.5.2.1. Estudio del Luchecillo a través de microscopia electrónica de barrido (MEB)**

Las Fotografías 12, 13 y 14 muestran el aspecto de plantas recolectadas en las estaciones 17 (Santa María 3), 22 (Cayumapu 3) y 31 (Cabo Blanco), respectivamente. Tanto en los tallos como en las hojas, se aprecia una cubierta parda que al desprenderse deja a la vista una cubierta celular decolorada (círculos blancos en Fotografías 12b, 13b, 13c, 14a, 14b y 14c). En estas plantas ha desaparecido el aspecto verdoso que se observa en plantas de aspecto normal (ver Fotografía 15, más adelante). Al observar las hojas de las plantas de Santa María, Cayumapu y Cabo Blanco con MEB, puede apreciarse que la mayor parte de la superficie celular de las mismas es cubierta por una costra o placa, a la cual se la ha denominado en este estudio cubierta coloide-plancton, esta última constituida primariamente por diatomeas (Fotografías 12d, 13e y 14e).

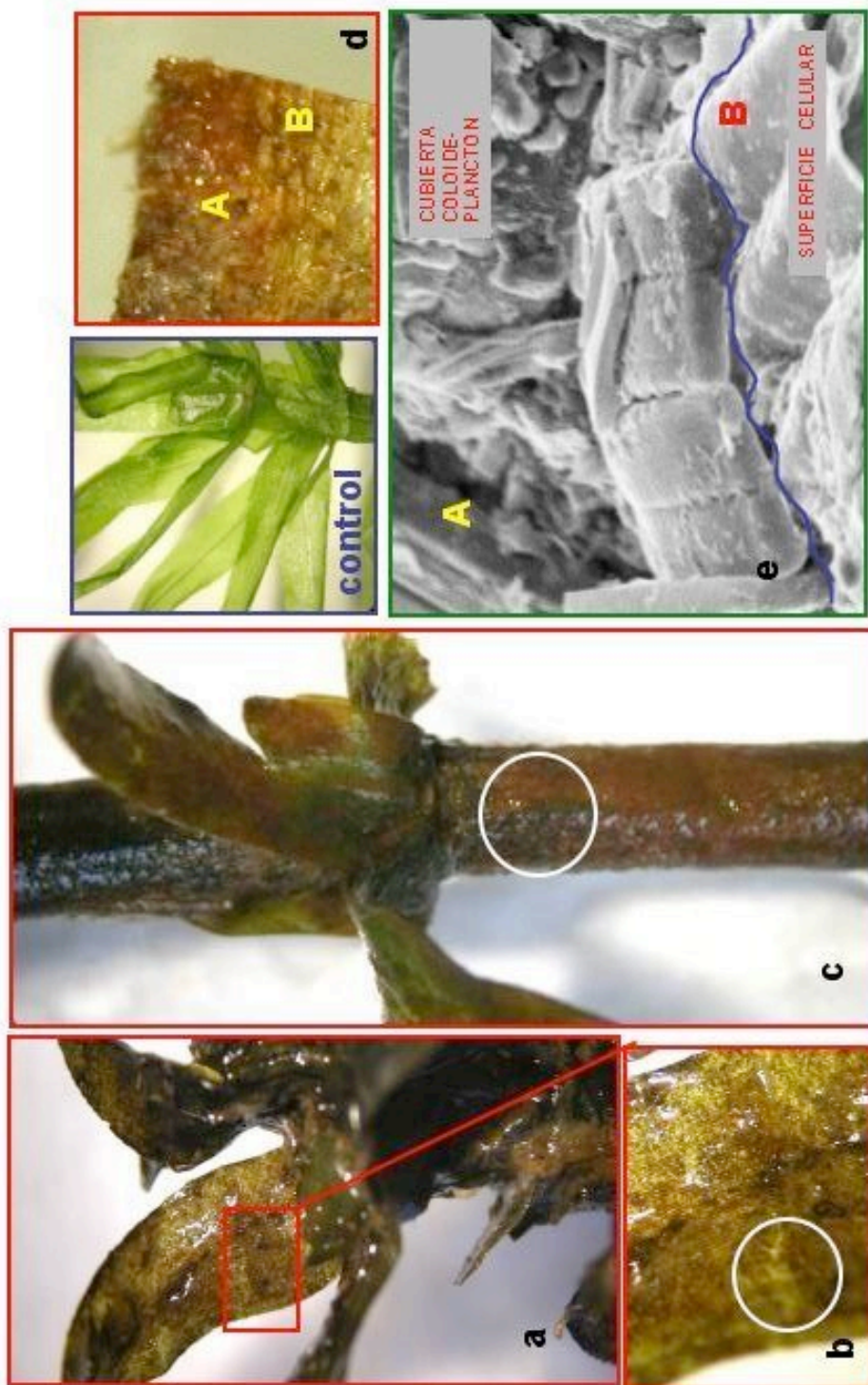
En las Fotografías 15a y 15b se muestran imágenes (a través de un microscopio lupa) de plantas de Luchecillo normales o controles. Las hojas fijadas y secadas (Fotografía 15c), que luego fueron estudiadas con MEB, aún cuando más decoloradas, muestran una superficie despejada permitiendo visualizar libremente sus límites celulares (paredes celulares). Mediante MEB (Fotografía 15d) se puede apreciar que la superficie celular de las hojas es homogénea, limpia y con algunos elementos planctónicos adheridos sobre las mismas.

En las Fotografías 16 y 17 se presentan observaciones más detalladas respecto de las diferencias entre plantas recolectadas dentro y fuera del Santuario. Las imágenes de plantas del Santuario en planos longitudinales (Fotografías 16a y 17a) y transversales (Fotografía 16b), muestran que sus hojas presentan una cubierta compacta rica en plancton (primariamente diatomeas). En las Fotografías 17b, 17c y 17d) se muestran más imágenes de hojas en el plano transversal, apreciándose que la cubierta de coloide-plancton (barras violetas) es muy

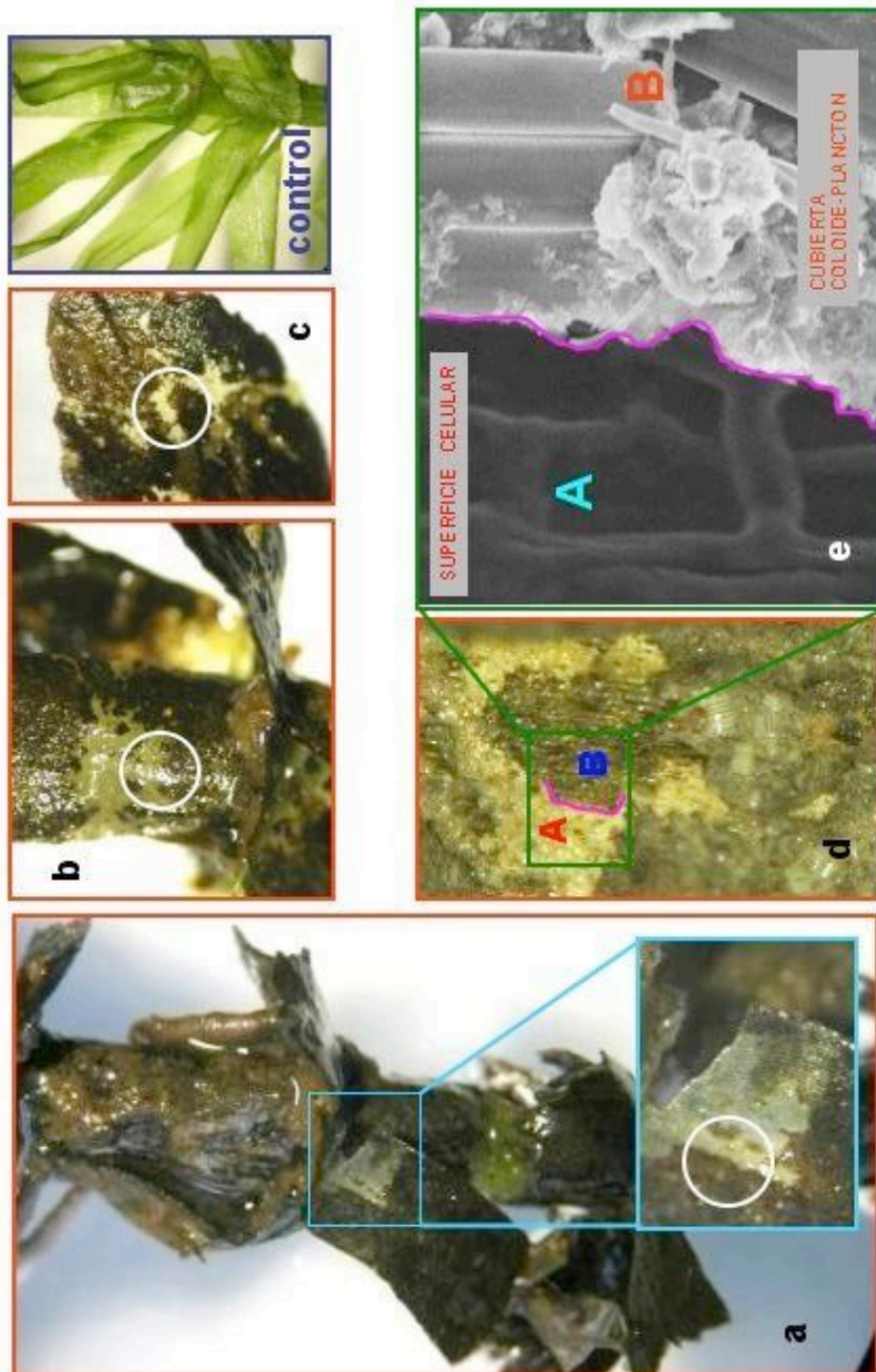
homogénea y cubre grandes áreas de la superficie de las hojas; su espesor relativo es de alrededor de 7 micrones (distancia “point to point” en Fotografía 17d). Por el contrario, las imágenes de hojas de plantas de Luchecillo recolectadas fuera del Santuario (plantas controles), muestran que tanto en un plano longitudinal (Fotografía 16c) como transversal (Fotografía 16d), la superficie celular de sus hojas está prácticamente despejada.



Fotografía 12. Muestra de lucheillo recolectada en la estación 17, Santa María 3 (sitio ubicado en el Santuario). a y b: vistas con microscopía de lupa (se incluye vista de planta control para fines comparativos), c y d: vistas a diferentes magnificaciones resultantes de análisis de MEB de hoja deshidratada. A= superficie celular libre, B= superficie cubierta por complejo coloide-plancton.

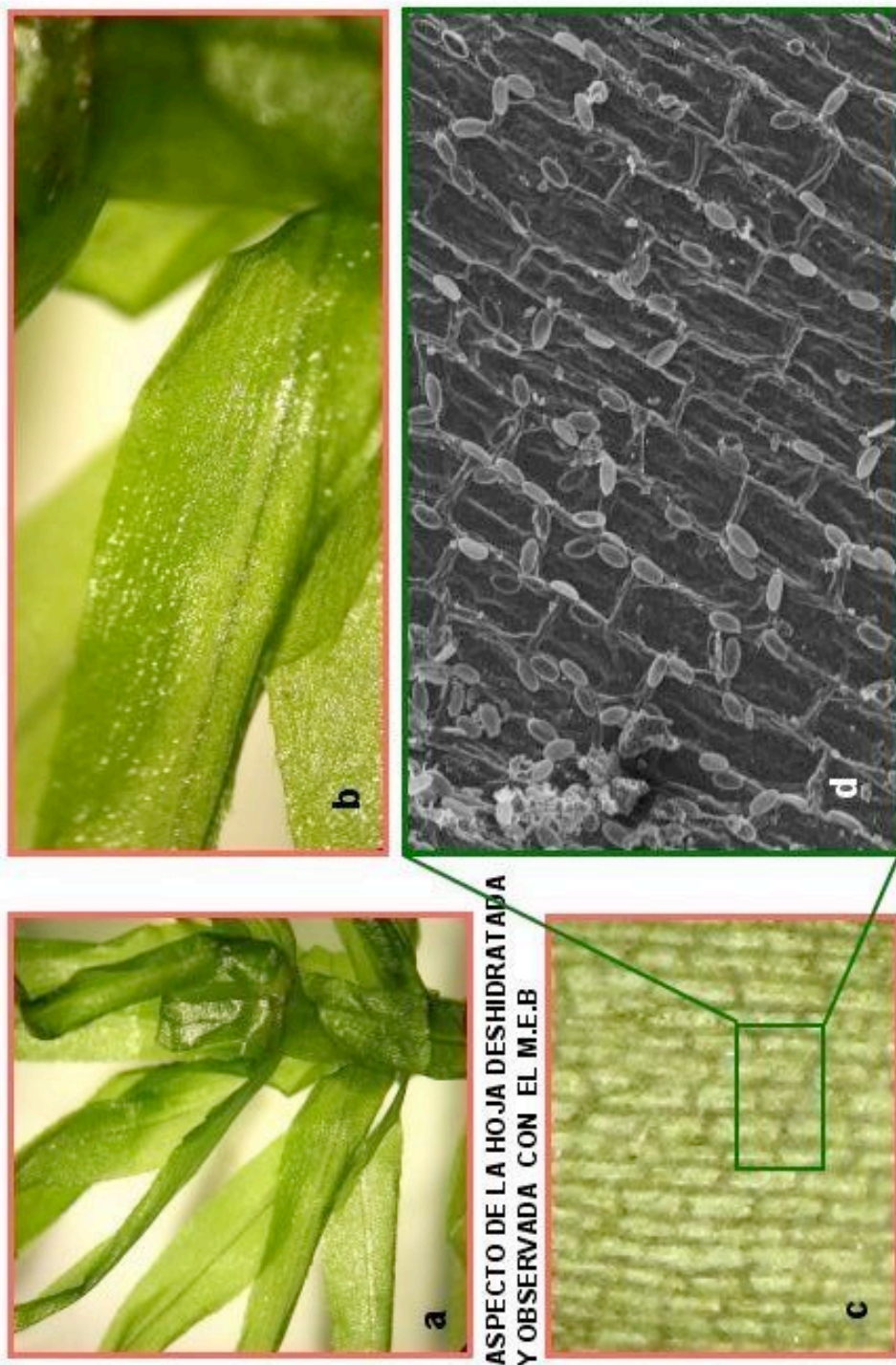


Fotografía 13. Muestra de lucheillo recolectada en la estación 22, Cayumapu 3 (sitio ubicado en el Santuario). a, b y c: vistas con microscopía de lupa (se incluye vista de planta control para fines comparativos), d y e: vistas a diferentes magnificaciones resultantes de análisis de MEB de hoja deshidratada. A= superficie cubierta por complejo coloide-plancton; B= superficie celular libre.

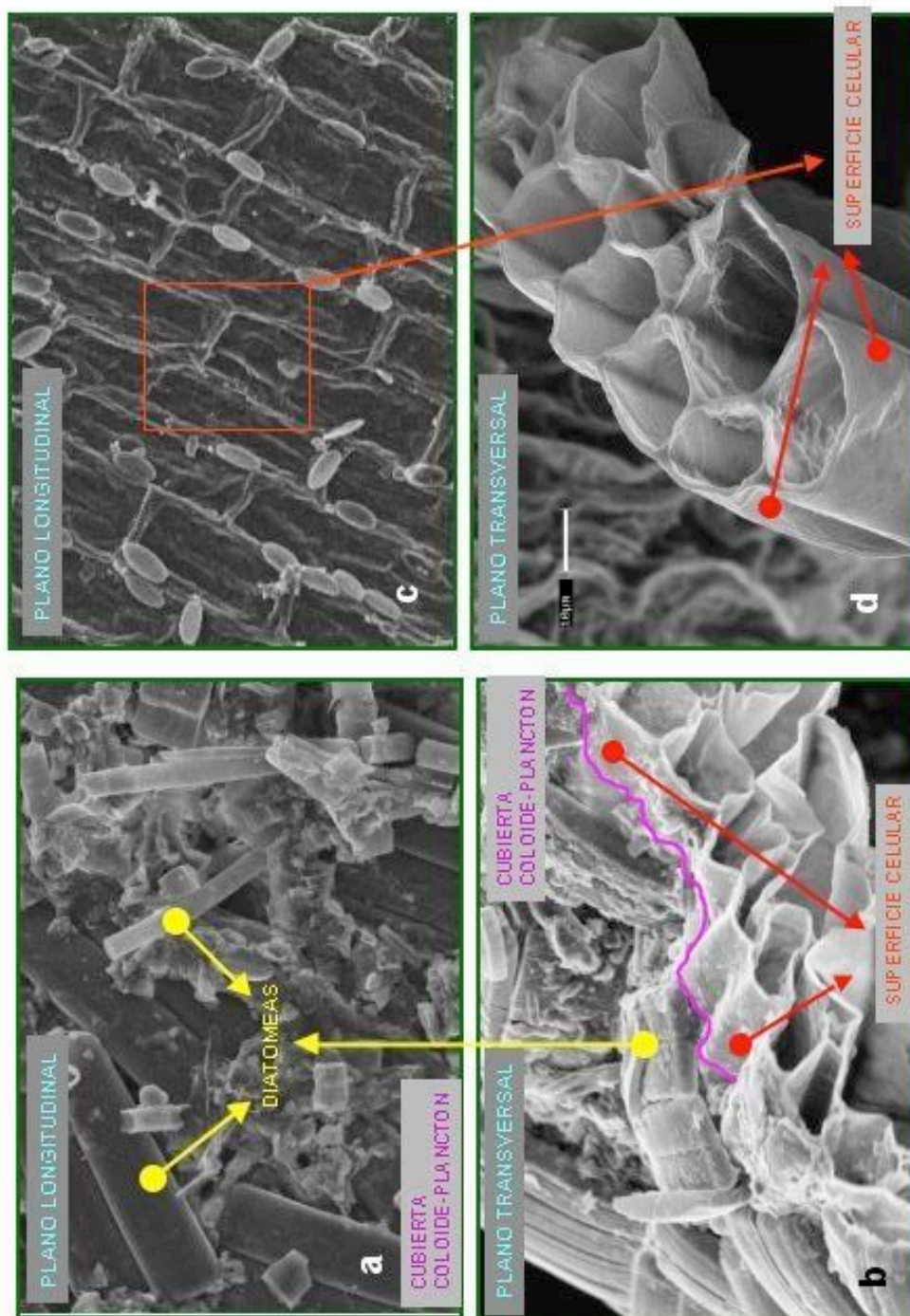


Fotografía 14. Muestra de lucheillo recolectada en la estación 31, Cabo Blanco (sitio ubicado en el Santuario). a, b y c: vistas con microscopía de lupa (se incluye vista de planta control para fines comparativos), d y e: vistas a diferentes magnificaciones resultantes de análisis de MEB de hoja deshidratada. A= superficie celular libre, B= superficie cubierta por complejo coloide-plancton.

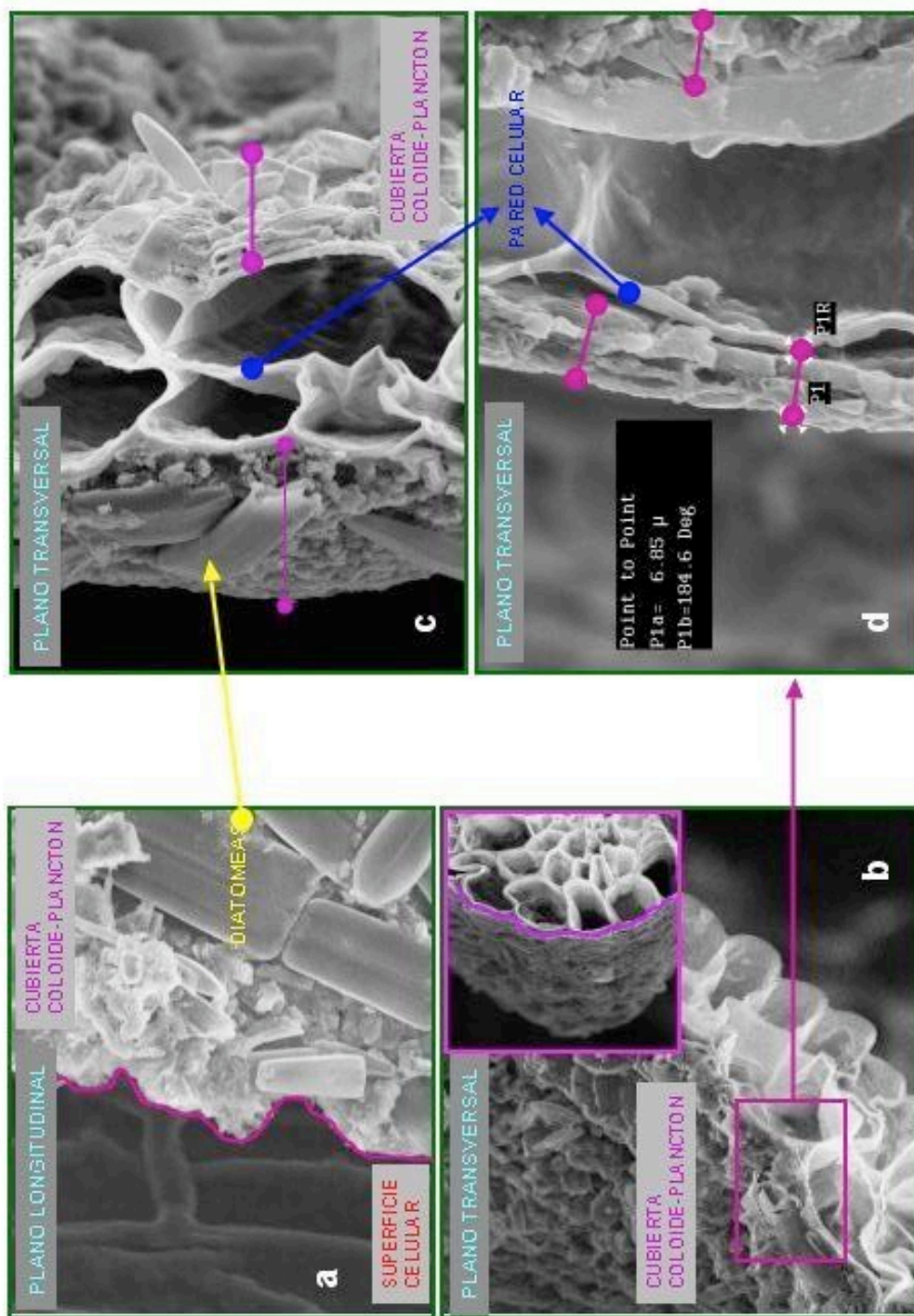




Fotografía 15. Muestra de lucheillo recolectada en la estación 32, río Valdivia (sitio control ubicado fuera del Santuario y humedales adyacentes). a y b: vistas con microscopía de lupa, c y d: vistas a diferentes magnificaciones resultantes de análisis de microscopía electrónica de barrido (MEB) de hoja deshidratada.



Fotografía 16. Vistas de diferentes planos resultantes de análisis de MEB de hojas deshidratadas de plantas recolectadas dentro del Santuario (a y b) y fuera del mismo (vistas c y d).

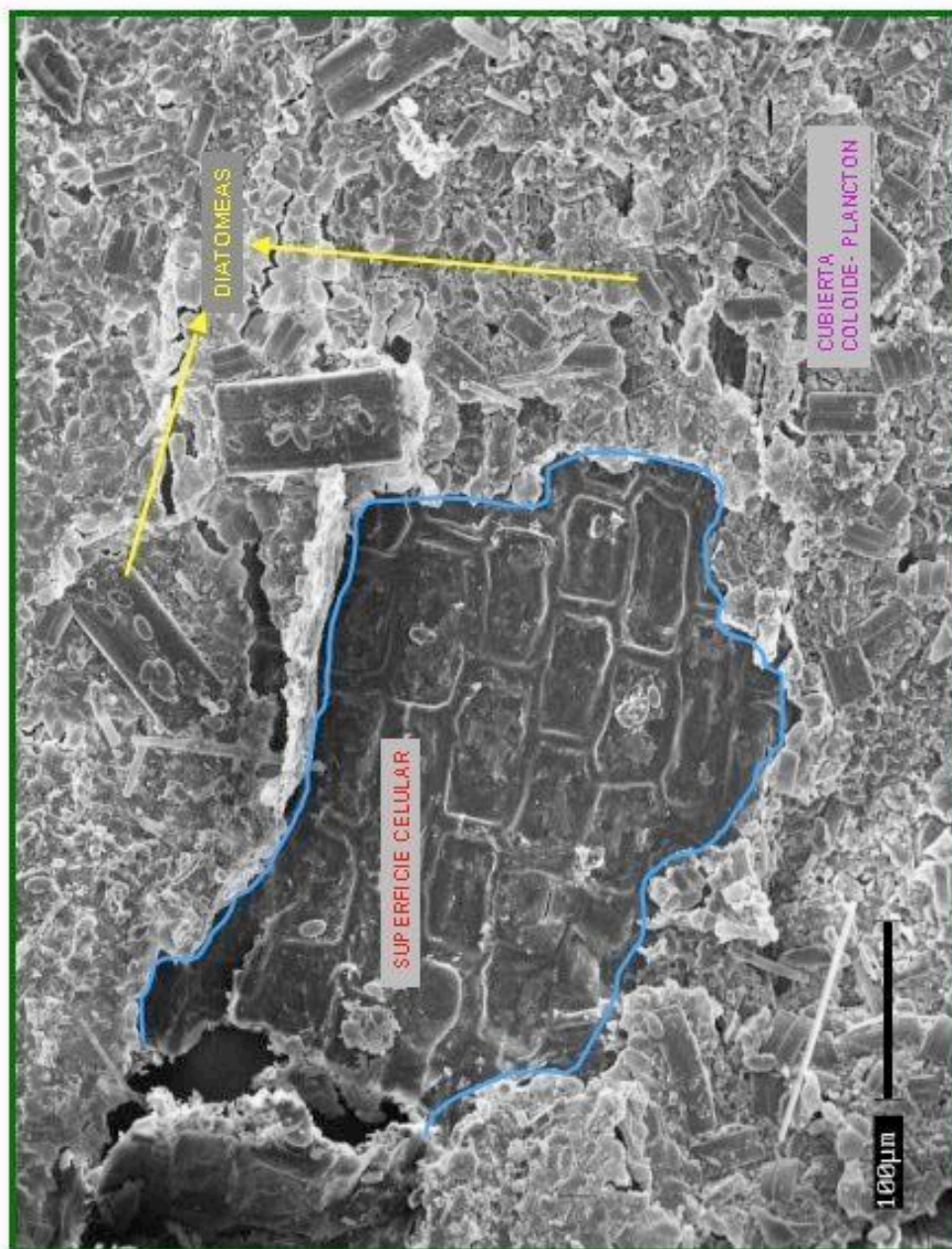


Fotografía 17. Vistas de diferentes planos resultantes de análisis de MEB de hojas deshidratadas de plantas recolectadas dentro del Santuario.

### **5.5.2.2. Estudio de la superficie de la hoja del Luchecillo a través de MEB y microanálisis lineal por rayos X (EDS)**

La Fotografía 18 muestra una imagen con MEB de una hoja de Luchecillo recolectada en el Santuario. Se pueden diferenciar dos áreas: una, cubierta por la placa de coloide-plancton (característica de los Luchecillos de Santuario) y otra donde se aprecia la superficie celular libre (similar a las muestras controles). El estudio de estas y otras áreas similares con MEB y microanálisis lineales por rayos X (“line scan”) permite identificar y evaluar la distribución de los elementos químicos que las componen.

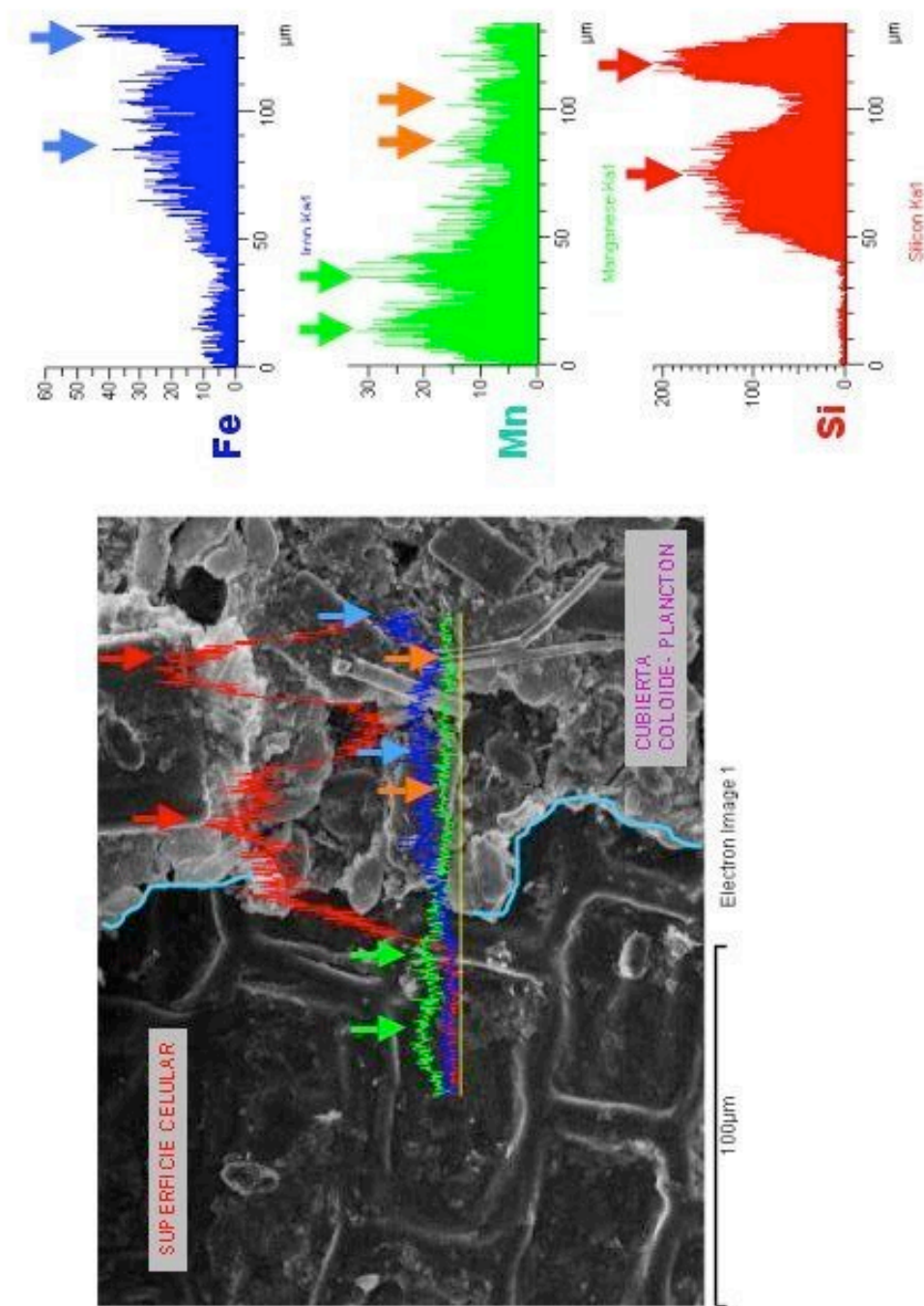
En los microanálisis se identificaron varios elementos químicos. La mayor parte de ellos (en mayor o menor grado), forman los compuestos orgánicos e inorgánicos presentes de modo usual en los organismos. Algunos de estos elementos, como ser los metales pesados, se encuentran normalmente en muy bajas concentraciones. Mediante los microanálisis, se identificaron de forma constante dos de estos tipos de elementos, Hierro y Manganeso. Otro elemento importante como el Silice, se utilizó como referencia, ya que forma parte del esqueleto celular de las diatomeas muy abundantes en la cubierta de coloide-plancton ya mencionada. A continuación, se presenta una selección de los resultados obtenidos.



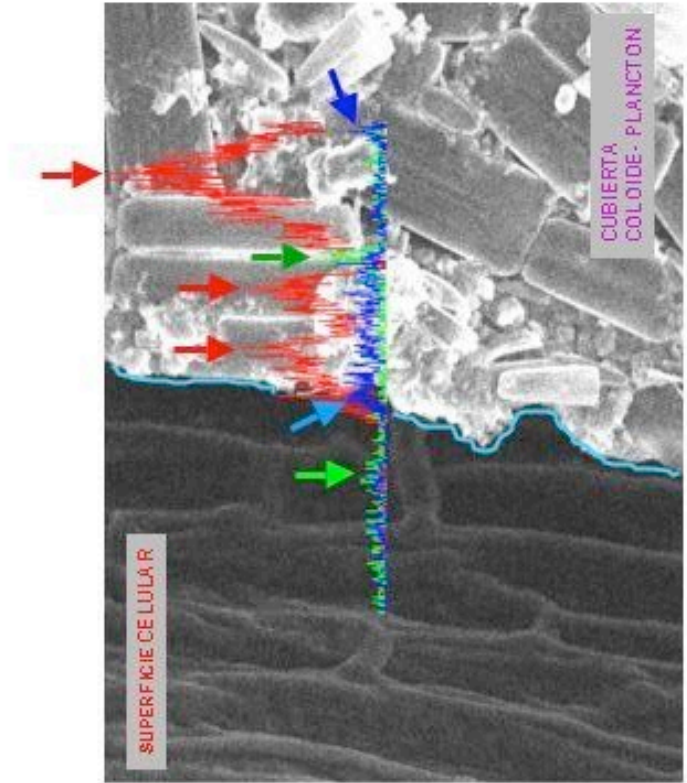
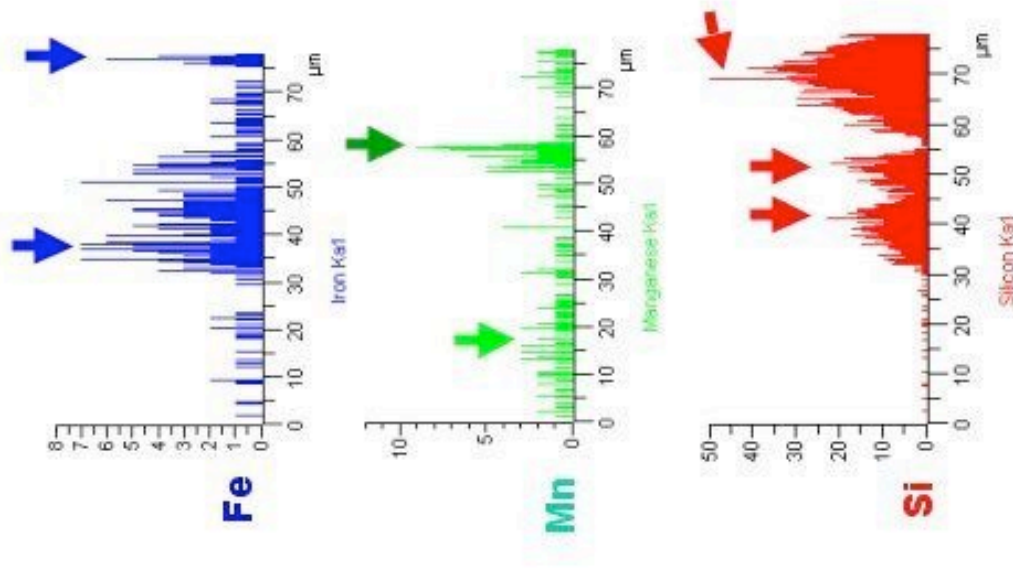
Fotografía 18. Aspecto general de la superficie de la hoja de una planta de lucheillo recolectada en el Santuario (estudio de microanálisis por rayos X).

En la Fotografía 19 se presentan los resultados de un microanálisis por “line scan” (de 130 micrones) de plantas de Luchecillo de la estación 17, Santa María 3 (sitio ubicado en el Santuario). El perfil de la gráfica sobre la superficie de la hoja pone en evidencia, que la cubierta de coloide-plancton contiene mayores niveles de Hierro que la superficie celular libre (flechas azules). Para el Manganeso, los resultados parecen ser menos definidos; la gráfica del “line scan” muestra que el “peak” mayor se localizó sobre la superficie celular libre (flechas verdes) y en menor grado sobre la cubierta de coloide-plancton (flechas naranjas). La gráfica del Sílice muestra sus mayores niveles de concentración sobre la cubierta de coloide-plancton (flechas rojas), lo que también se refleja en los altos valores numéricos de la escala referencial de concentración (eje Y).

En la Fotografía 20 se presentan los resultados de un microanálisis por “line scan” (de 70 micrones) de plantas de Luchecillo de la estación 31, Cabo Blanco (sitio ubicado en el Santuario). También se observa que los niveles de Hierro son más elevados sobre la cubierta de coloide-plancton y menores sobre la superficie celular libre (flechas azules). En este caso la escala referencial de concentración del Hierro fue menor. A diferencia de la fotografía anterior, el Manganeso muestra mayores concentraciones sobre la cubierta de coloide-plancton (flecha verde oscura). El “peak” más alto de Sílice aparece nuevamente sobre la cubierta de coloide-plancton (flechas rojas).



Fotografía 19. Microanálisis lineal por rayos X ("line scan") de la superficie de la hoja de una planta de lucheillo recolectada en la estación 17, Santa María 3 (sitio ubicado en el Santuario). A la derecha se muestra la variabilidad de Sílice (Si), Manganeso (Mn) y Hierro (Fe) a lo largo de la sección lineal analizada.



Fotografía 20. Microanálisis lineal por rayos X ("line scan") de la superficie de la hoja de una planta de lucheillo recolectada en la estación 31, Cabo Blanco (sitio ubicado en el Santuario). A la derecha se muestra la variabilidad de Sílice (Si), Manganeseo (Mn) y Hierro (Fe) a lo largo de la sección lineal analizada.



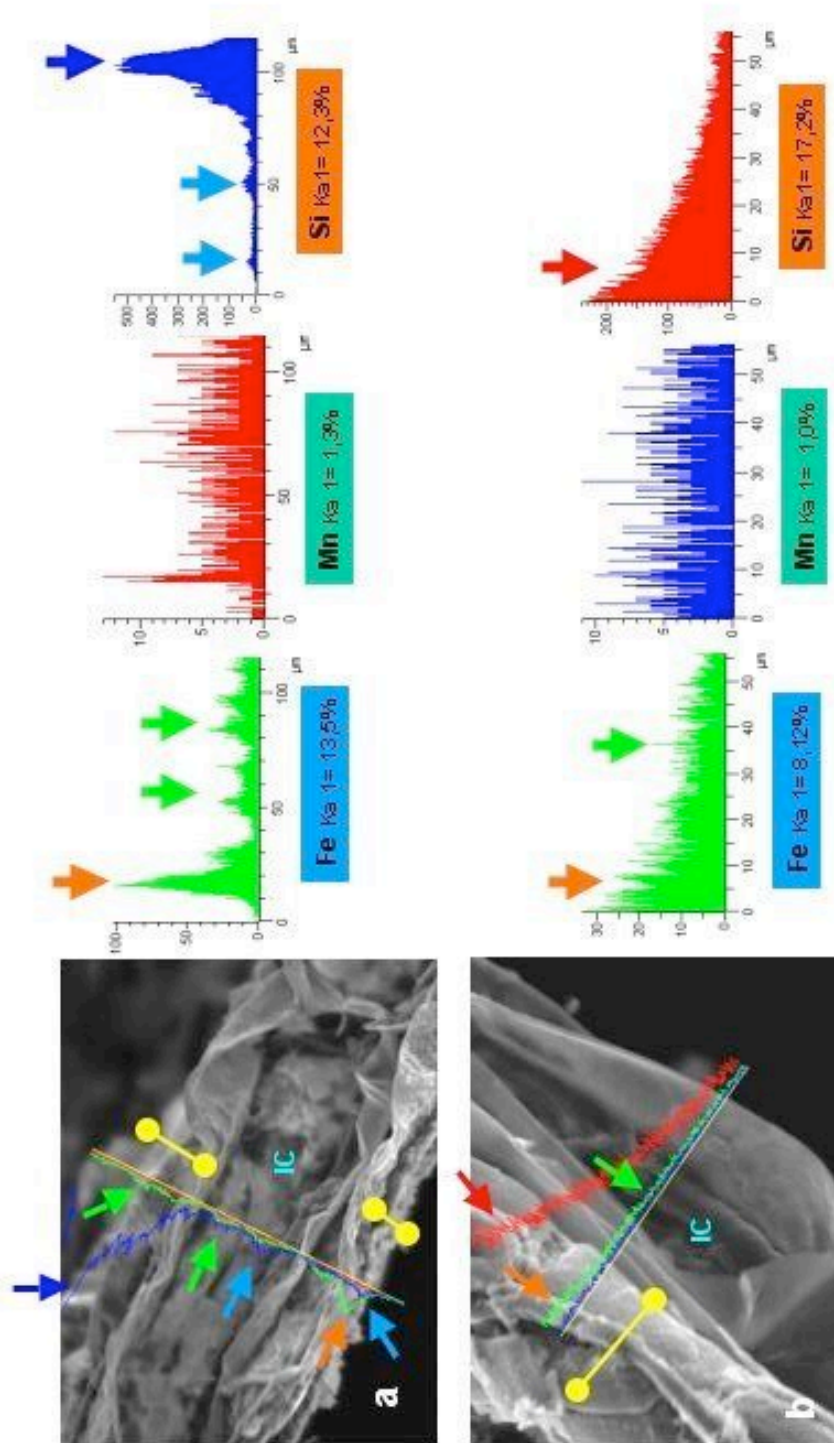
A continuación se muestran los resultados de los microanálisis por “line scan” realizados en hojas de Luchecillo recolectadas dentro como fuera del Santuario. En este caso, los análisis estuvieron dirigidos a identificar la distribución relativa de Hierro, Manganeso y Sílice, tanto en la superficie celular como en el interior de las células. En las fotografías siguientes, los valores porcentuales que se indican para cada elemento corresponden a los promedios de concentraciones porcentuales entregados por los microanálisis por áreas realizados en regiones intracelulares, efectuados a mayores aumentos o magnificaciones (3000-6000 X).

Las Fotografías 21, 22 y 23, muestran los resultados de los microanálisis por “line scan” realizados en hojas de Luchecillo recolectadas dentro del Santuario. En todas las fotografías las barras amarillas delimitan aproximadamente la cubierta de coloide-plancton.

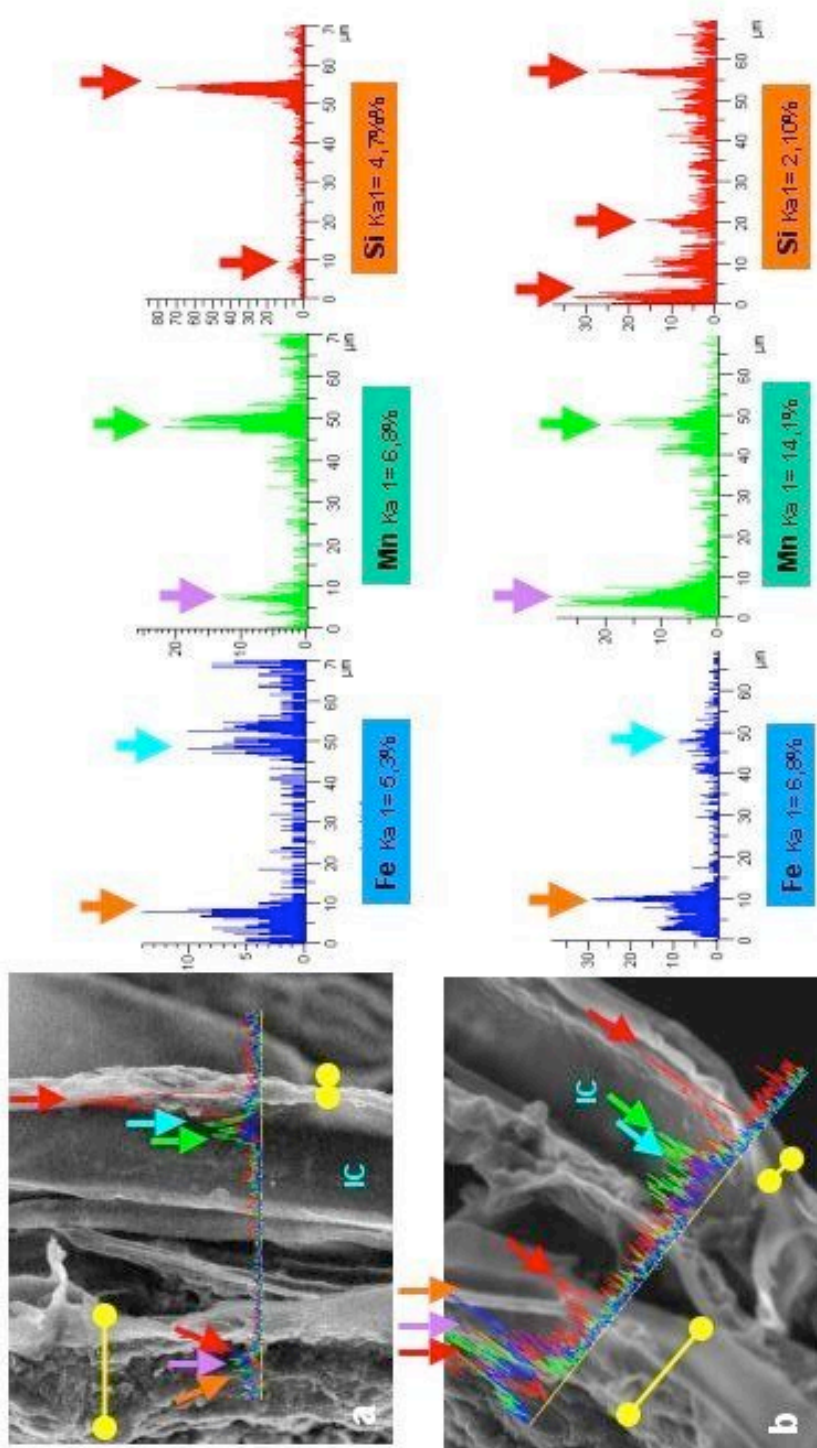
La Fotografía 21 muestra los resultados de microanálisis por “line scan” realizados en las hojas de Luchecillo de la estación 17, Santa María 3 (sitio ubicado en el Santuario) (21a= “line scan” de 100 micrones, 21b= “line scan” de 50 micrones). En ambas modalidades de “line scan”, el Hierro se encuentra en concentraciones bastante elevadas. Se observa también hacia el lado IC un “peak” muy definido en las concentraciones de Hierro (flechas verdes); los “peaks” son mucho más acentuados sobre la superficie externa de la hoja, donde se encuentra la cubierta de coloide-plancton (flechas naranjas). Los niveles de Hierro IC y valores referenciales de concentración (ejes Y) son mayores a los observados en las hojas de Luchecillo control (cf. Fotografía 24a y 24b). En ambas modalidades de “line scan” se puede observar una distribución relativamente lineal para el Manganeso, siendo su nivel de concentración intracelular IC menor al observado en hojas de Luchecillo control (cf. Fotografía 24a y 24b). El Sílice también muestra “peaks” muy definidos, los que se observan principalmente sobre las áreas superficiales de las hojas (Fotografía 21a, flecha azul; Fotografía 21b, flecha roja). Los valores referenciales de concentración (eje Y) son también muy elevados respecto del Luchecillo control; en la Fotografía 21a de 0 - 500 y en 21b de 0 -200. Los valores del microanálisis en áreas de la región IC muestran promedios

porcentuales de concentración significativamente mayores que en las hojas de Luchecillo control (cf. Fotografía 24a y 24b).

La Fotografía 22 muestra los resultados de microanálisis por “line scan” realizados en las hojas de Luchecillo de la estación 22, Cayumapu 3 (sitio ubicado en el Santuario) (22a= “line scan” de 70 micrones, 22b= “line scan” de 60 micrones). El Hierro muestra dos importantes “peaks” en la región IC (flechas celestes); estas concentraciones fueron también mayores a las observadas en plantas controles (cf. Fotografía 24a y 24b). Los perfiles de las gráficas del Hierro denotan “peaks” muy definidos sobre la cubierta de “coloide-plancton” (flechas naranjas), con un valor referencial de concentración (eje Y) más elevado en la imagen de la Fotografía 22b. A diferencia de los resultados obtenidos para las plantas de Santa María 3 (Fotografía 21), el Manganeseo muestra una distribución más heterogénea. Los perfiles de las gráficas muestran “peaks” intracelulares (IC) muy definidos (flechas verdes). El microanálisis en un área de la región IC muestra niveles de Manganeseo más elevados que los de las plantas de Luchecillo control (cf. Fotografía 24a y 24b). Otros “peaks” relevantes para el Manganeseo se observan sobre la cubierta de coloide-plancton (flechas violetas). Los niveles de Sílice también fueron mayores sobre la cubierta de coloide-plancton (flechas rojas). El microanálisis IC revela que los promedios porcentuales de concentración son mayores que en los Luchecillos controles (cf. Fotografía 24a y 24b).



Fotografía 21. Microanálisis lineal por rayos X ("line scan") de la superficie de hojas en el plano transversal de plantas de lucheillo recolectadas en la estación 17, Santa María 3 (sitio ubicado en el Santuario). a y b corresponden a hojas de diferentes plantas. Los valores porcentuales en la base de cada gráfico X-Y corresponden al microanálisis intracelular IC.



Fotografía 22. Microanálisis lineal por rayos X ("line scan") de la superficie de hojas en el plano transversal de plantas de luchecillo recolectadas en la estación 22, Cayumapu 3 (sitio ubicado en el Santuario). a y b corresponden a hojas de diferentes plantas. Los valores porcentuales en la base de cada gráfico X-Y corresponden al microanálisis intracelular IC.

La Fotografía 23 muestra los resultados de los microanálisis por “line scan” de 50 micrones, realizados con plantas de Luchecillo recolectadas en la estación 31, Cabo Blanco (sitio ubicado en el Santuario). Se observa que los niveles porcentuales de concentración IC para Hierro, Manganeso y Sílice, fueron mucho más elevados que los niveles mostrados por los Luchecillos controles (el Manganeso, especialmente incrementado) (cf. Fotografía 24a y 24b). Los perfiles de las gráficas confirman para esta muestra, la presencia intracelular de los tres elementos analizados (flechas celestes), aún cuando los “peaks” más pronunciados se observan sobre la cubierta de coloide-plancton (flechas rojas) (Fotografía 23).

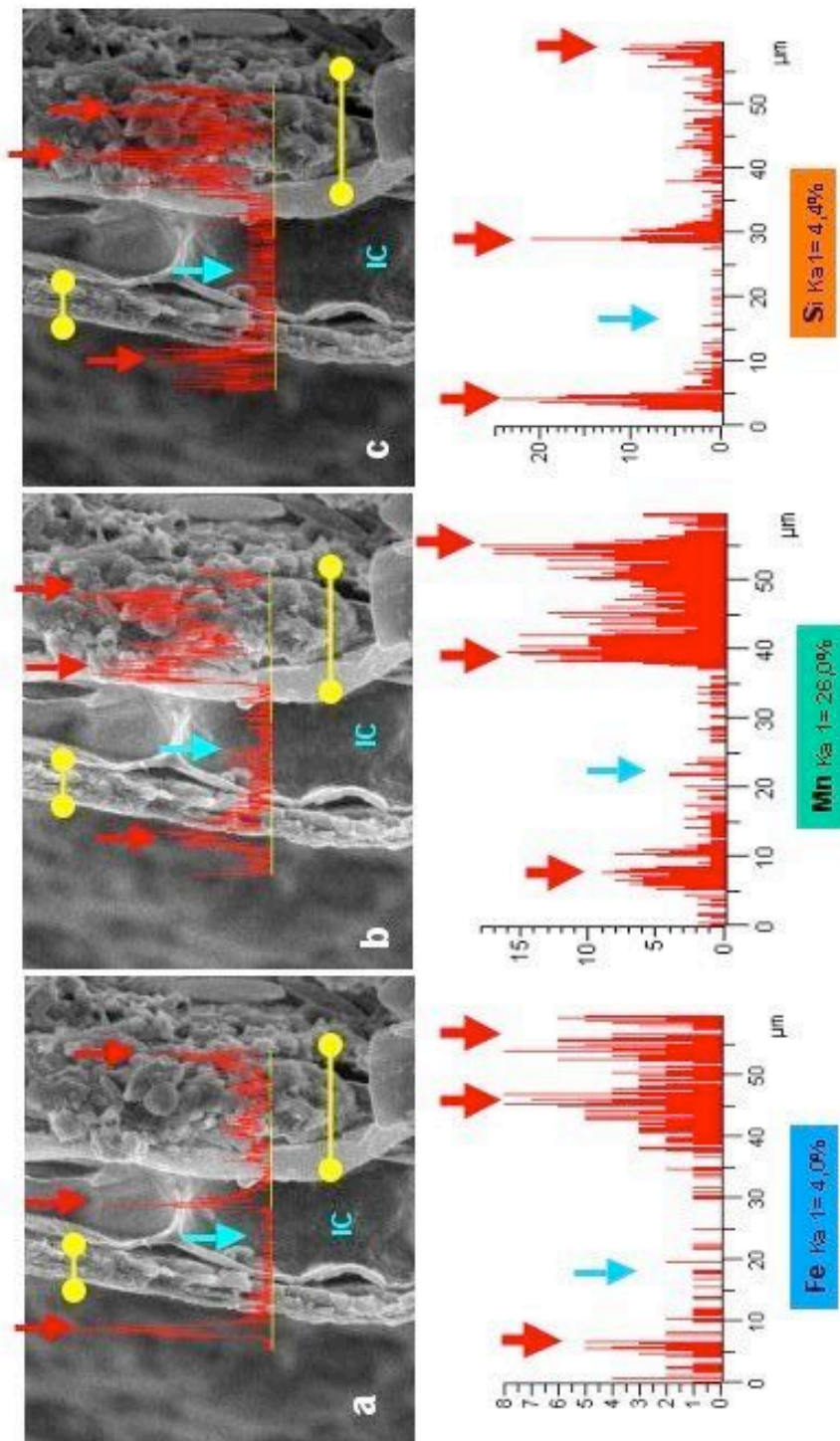
La Fotografía 24 muestra los resultados del “line scan” realizado en las hojas de Luchecillo recolectadas fuera del Santuario (plantas controles); “line scan” de 40 y 50 micrones en 24a y 24b, respectivamente. Los resultados de ambos análisis muestran una distribución casi lineal de los elementos; es decir, los perfiles de las gráficas no muestran “peaks” importantes y los valores referenciales de concentración (eje Y) son bajos. Los valores porcentuales de los microanálisis en áreas intracelulares IC fueron más elevados para el Manganeso, respecto del Hierro y Sílice (Fotografía 24).

#### **5.5.2.3. Estudio realizados con MEB y microanálisis por rayos X (EDS) de los extractos de Luchecillos**

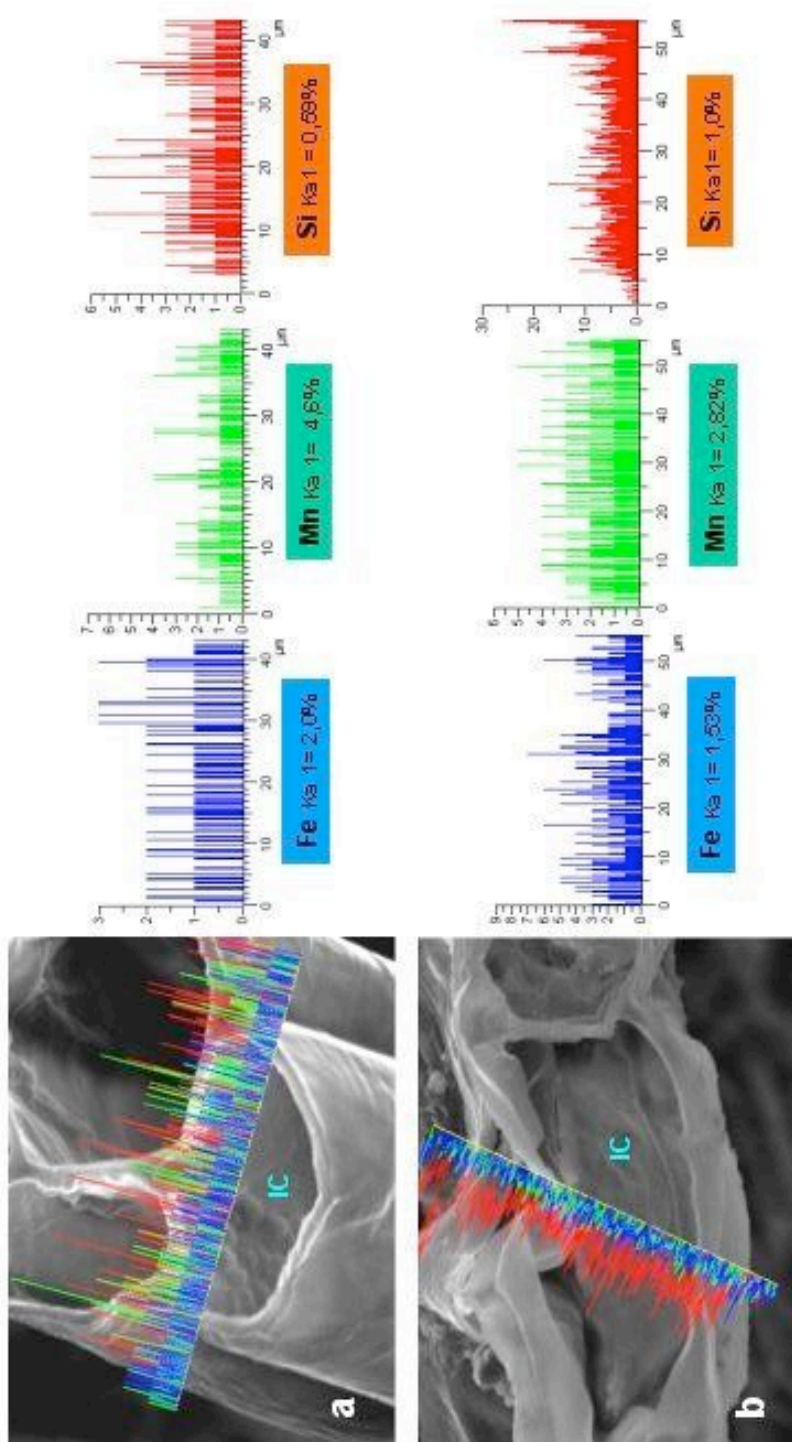
Los valores que se muestran en la Tabla 21, indican que en general las concentraciones porcentuales en peso de Hierro, Manganeso y Sílice fueron más altas en plantas de Luchecillo recolectadas en el Santuario que aquellas de las plantas controles. Los valores porcentuales promedio de Hierro, Manganeso y Sílice fueron 7.3, 4.1 y 9.1 para plantas del Santuario, *versus* 3.2, 2.7 y 4.7 para plantas recolectadas fuera de este.

Tabla 21. Concentración de metales pesados (%) detectados mediante microscopia electrónica de barrido (MEB) a través de microanálisis de rayos X (EDS) en muestras de Luchecillo recolectadas en diferentes sitios del Santuario y humedales adyacentes. Los números entre paréntesis hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas el 22 de Diciembre del 2004 (ver Fig. 3)

| <b>Estación</b>        | <b>Hierro</b> | <b>Manganeso</b> | <b>Silice</b> |
|------------------------|---------------|------------------|---------------|
| Fuerte San Luis 2 (8)  | 4.50          | 0.93             | 4.40          |
| Nanihue 1 (10)         | 7.21          | 7.10             | 7.40          |
| Nanihue 2 (11)         | 8.70          | 3.20             | 9.80          |
| Cudico 2 (14)          | 2.30          | 5.00             | 3.40          |
| Santa Maria 3 (17)     | 11.20         | 6.60             | 16.80         |
| Pichoy 1 (18)          | 7.25          | 2.30             | 8.65          |
| Cayumapu 2 (21)        | 7.60          | 4.10             | 7.30          |
| Cayumapu 3 (22)        | 9.00          | 6.20             | 18.00         |
| Chorocamayo (25)       | 7.90          | 2.20             | 7.50          |
| Tambillo 1 (26)        | 3.50          | 6.50             | 9.70          |
| Punucapa 3 (30)        | 7.20          | 1.30             | 6.80          |
| Cabo Blanco (31)       | 11.10         | 3.70             | 9.60          |
| Río Valdivia (32)      | 2.10          | 2.02             | 5.90          |
| Río Calle-Calle 2 (33) | 4.20          | 3.40             | 3.50          |



Fotografía 23. Microanálisis lineal por rayos X ("line scan") de la superficie de hojas en el plano transversal de plantas de lucheillo recolectadas en la estación 31, Cabo Blanco (sitio ubicado en el Santuario). a, b y c corresponden a los espectros por separado para Hierro (Fe), Manganeseo (Mn) y Silíce (Si).



Fotografía 24. Microanálisis lineal por rayos X ("line scan") de la superficie de hojas en el plano transversal de plantas de lucheillo recolectadas en la estación 32, río Valdivia (sitio control ubicado fuera del Santuario y humedales adyacentes). a y b corresponden a hojas de diferentes plantas. Los valores porcentuales en la base de cada gráfico X-Y corresponden al microanálisis intracelular IC.



## 5.6. Conclusiones

Los estudios de terreno y laboratorio realizados durante la presente etapa del estudio y relacionados a la situación actual del Luchecillo permiten concluir que:

- i) Las poblaciones de *Egeria densa* del Santuario, se encuentran muy deterioradas ya que los escasos individuos que las forman están en un estado deplorable, con escasa biomasa, mucha necromasa y una proporción altamente anormal de raíces.
- ii) Las revisiones bibliográficas realizadas, muestran que las plantas acuáticas son acumuladoras y biomagnificadoras de tóxicos como metales pesados. Tales procesos son la principal vía a través de la cual, estos tóxicos entran a la cadena trófica. Las mismas revisiones muestran que sobre ciertas concentraciones, los metales pesados producen efectos tóxicos sobre las plantas, llevándolas en caso extremo a la muerte.
- iii) Hierro y Manganeseo fueron los dos metales pesados con las concentraciones más altas, tanto en las plantas recolectadas en el Santuario, como en aquellas recolectadas fuera del mismo. Sin embargo, las concentraciones de Hierro y Manganeseo en las plantas del Santuario (30958.95 y 9034.79 mg / kg, respectivamente), fueron significativamente más altas que las calculadas para las plantas recolectadas en los ríos Calle-Calle y Valdivia (9761.00 y 4252.67 mg / kg, respectivamente). Las concentraciones de Hierro encontradas en las plantas del Santuario, son más altas que las encontradas en sitios prístinos del sur de Brasil para esta misma especie y otra del mismo género (cerca de 2500 mg / kg), e incluso muy superiores por ejemplo, a las concentraciones registradas en plantas de arroz con evidentes signos de toxicidad (700 mg / kg).

- iv) No se detectaron pesticidas organoclorados ni compuestos fenólicos o fenólicos halogenados en las plantas de Luchecillo del Santuario y humedales adyacentes. Solo se detectaron xenobióticos (compuestos extraños al sistema) como ftalatos, compuestos naturales como  $\alpha$ -pineno y limoneno (derivados de la madera) y un compuesto identificado como tributil fosfato (TBF), el cual es utilizado en procesos industriales.
  
- v) Los resultados de los experimentos de laboratorio señalan que las altas concentraciones de Hierro y otros metales detectadas en las plantas del Santuario, las afectaron de forma significativa. Por lo tanto, puede concluirse que la presencia de metales en concentraciones superiores a lo habitual en el área fueron responsables de la muerte masiva de los organismos de esta especie.
  
- vi) Ya que durante el desarrollo de los experimentos de terreno no se observaron las altas mortalidades de Luchecillo observadas en los experimentos de laboratorio, se concluye que las actuales aguas del Santuario no tienen la toxicidad de las aguas que probablemente diezmaron las poblaciones de *Egeria densa* durante el año 2004.
  
- vii) La simple observación a vista desnuda o a través de un microscopio lupa, muestra que las plantas recolectadas en los distintos sectores del Santuario tienen una coloración parda que difiere del color verde que muestran los Luchecillos que habitan en áreas fuera del mismo. Ese color pardo esta directamente relacionado, con la cubierta de un material de aspecto residual que cubre tanto los tallos como las hojas de estas plantas. Los estudios realizados con MEB muestran que esa cubierta (coloide-plancton) esta constituida por dos componentes; uno de aspecto amorfo-coloidal y otro constituido primariamente por diatomeas (algas microscópicas).

- viii) Es altamente probable que la cubierta coloide-plancton tenga un efecto de pantalla que bloquea la luz solar, impidiendo por lo tanto un correcto proceso de fotosíntesis, vital para la salud y vida de la planta.
- ix) Los microanálisis por rayos X (EDS), demuestran que la cubierta coloide-plancton concentra gran cantidad de Hierro y en mayor o menor grado Manganeseo. La gran cantidad de agregados planctónicos en esta cubierta, se refleja por los altos niveles de Sílice en la misma.
- x) La formación de la cubierta de coloide-plancton sobre la superficie de los tallos y hojas en las de los distintos sectores del Santuario, puede explicarse como una reacción a cambios bruscos en el medio ambiente del Luchecillo. Como respuesta al estrés, y como ocurre en muchos tejidos irritados, las plantas reaccionan secretando a través de sus células un compuesto mucilaginoso. Este promovería, el que compuestos químicos del medio y el propio plancton, se agreguen sobre su superficie hasta llegar a formar la cubierta compacta. Metales como el Hierro y el Manganeseo podrían concentrarse y producir un efecto tóxico sobre la planta, e impedir (por bloqueo de la luz solar) un proceso fotosintético normal.
- xi) Los microanálisis a nivel intracelular (IC), muestran que el Hierro, Manganeseo y Sílice tienen promedios porcentuales de concentraciones en peso, más altos que aquellos registrados en las plantas controles. El aumento de la concentración IC de estos metales (principalmente del Hierro), podría explicarse por un incremento desmedido de estos en el medio ambiente. El aumento en la concentración de estos metales en el medio, incrementaría la oferta para el metabolismo de la planta lo que provocaría en el tiempo un proceso de acumulación dentro de sus tejidos, interfiriendo con procesos metabólicos normales como ha sido registrado en la

literatura para plantas acuáticas. Tal interferencia se refleja en el color pardo de las plantas del Santuario, respuesta característica a los efectos de altas concentraciones de Hierro y Manganeso en el agua.

## **6. Biodisponibilidad de metales pesados en aguas del río Cruces**

### **6.1. Antecedentes**

Recientemente se ha introducido la técnica de concentrar metales pesados utilizando geles de gradientes de difusión denominados comercialmente DGT. (Davison & Zhang, 1994; Denney et al. 1999; Peters et al. 2003). Estos geles actúan sobre la base de concentrar aquellos compuestos metálicos disueltos en el medio, sea esta agua, sedimentos o suelos. Estas características los han puesto en primer plano como una metodología para la estimación de metales disponibles en el medio y que son los que interactúan con los sistemas biológicos. En este estudio se utilizaron geles de difusión DGT, para estimar la presencia de metales biodisponibles en diferentes sectores del Santuario.

### **6.2. Metodologías**

Se utilizaron dispositivos de plástico industrial armados similares a los usados por Davison & Zhang (1994). Estos consistieron de un filtro de 0.45 micrones (polysulfonato), un gel de difusión y una resina Chelex 100 para la concentración de metales disueltos en el agua. El área de colecta fue de 2 cm de diámetro, la membrana de 0.135 mm de espesor, un gel de difusión de 0.8 mm de espesor y un gel de resina Chelex 100 de 0.4 mm.

En la Figura 15 se muestra la ubicación de los cuatro sitios en el río Cruces donde se expusieron los geles para medir concentraciones de metales en solución. Una estación se ubicó aproximadamente 100 m aguas arriba de la zona de descarga de los riles de la planta de CELCO, en la comuna de San José de la Mariquina (estación 1). La segunda estación de muestreo se ubicó en la zona del río inmediatamente aledaña a esa zona de descarga (estación 2). La tercera estación se ubicó en el sector del río aledaño al puente Rucaco (estación 3; aproximadamente 1.5 km aguas abajo de la segunda estación), a la vez que la cuarta estación se ubicó frente al muelle del Fuerte San Luis a la entrada del

Santuario (estación 4; aproximadamente 10 km aguas abajo del puente Rucaco). Los días de exposición de los geles fueron los los días 3-4 de Enero (estación 4), 5-6 de Enero (estación 1 y 2) y 6 y 7 de Enero (estación 3). La Tabla 22 muestra las coordenadas de esas cuatro estaciones.

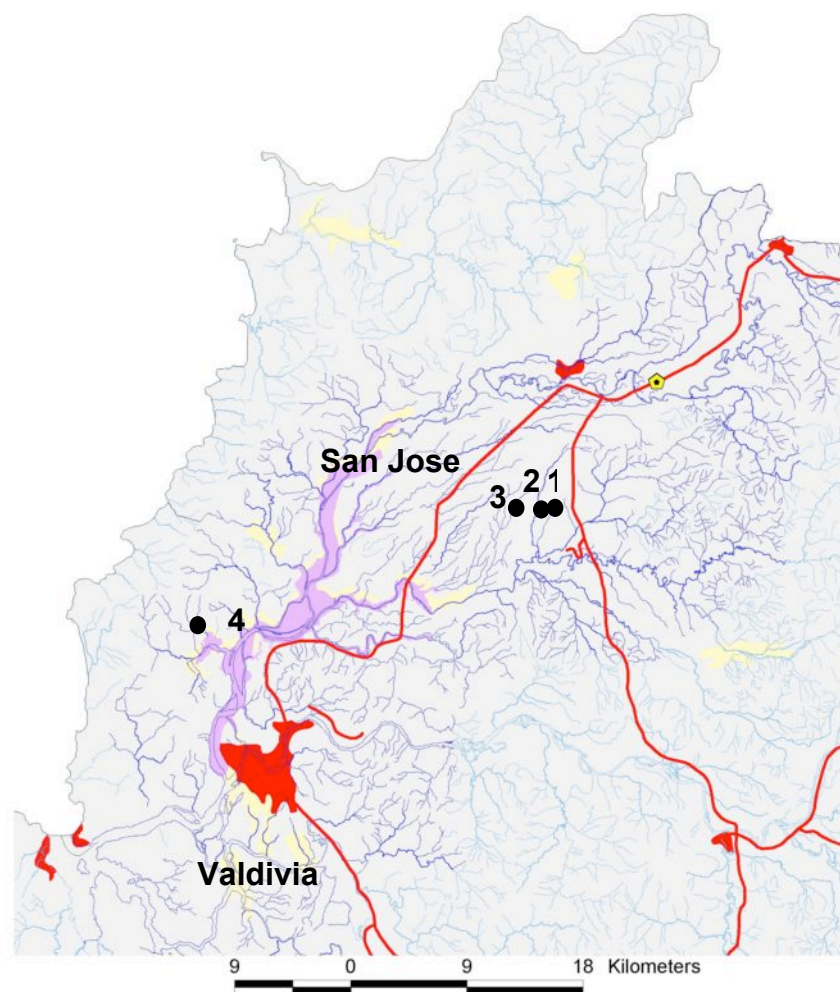


Figura 15. Ubicación de las estaciones muestreadas para determinar la concentración de metales pesados disueltos en el agua utilizando geles de difusión (DGT). 1 = estación 1, 2 = estación 2, 3 = estación 3, 4 = estación 4 (ver Tabla 22).

Tabla 22. Coordenadas en sistema sexagesimal y UTM de las estaciones donde se expusieron los geles para estudio de biodisponibilidad de metales pesados en las aguas del río Cruces (grilla de referencia de conversión en UTM: 184 x b4533604584).

| Estaciones | Sexagesimal   |                | UTM      |          |
|------------|---------------|----------------|----------|----------|
| Estación 1 | 39°33'51.9''S | 072°53'26.3''W | 5604115N | 0675233E |
| Estación 2 | 39°33'51.9''S | 072°53'26.3''W | 5603631N | 0672100E |
| Estación 3 | 39°33'16.4''S | 072°54'14.7''W | 5615030N | 0676818E |
| Estación 4 | 39°36'81.4''S | 073°09'55.8''W | 5604584N | 0645336E |

Los geles se instalaron en dos profundidades en las estaciones 1, 2 y 3; estas fueron superficie (50 cm bajo la superficie del agua) y fondo (aproximadamente 50 cm sobre el fondo). En la estación 4 se agregó una profundidad media (equidistante entre superficie y fondo). En cada profundidad se instalaron dos geles replicados, fijados a una cuerda anclada en el fondo del río y expuestos durante 24 horas a las características del agua. Una vez recolectados los geles conteniendo la resina, se colocaron en tubos Ependorf para proceder a la extracción de los metales con 1M HNO<sub>3</sub> por al menos 24 horas. Para los análisis se utilizó una alícuota del extracto (diluída hasta 5 veces con agua MQ) y ICP-MS (SERNAGEOMIN, Santiago) cuadropolo.

Las concentraciones de metales se calcularon con la siguiente formula:

$$M = Ce (V_{\text{HNO}_3} + V_{\text{gel}}/fe) \quad (1)$$

En donde,

M = masa del metal a determinar

Ce = concentración del metal determinado por ICP-MS

V<sub>HNO<sub>3</sub></sub> = volumen del ácido utilizado

V<sub>gel</sub> = volumen de la resina

Fe = factor de elución

Una vez determinada la masa medida, se calculó la concentración de metales con la formula:

$$C_{DGT} = M \Delta g / DtA \quad (2)$$

En donde:

$\Delta g$  = es el espesor del gel de difusión en mm

$D$  = es el coeficiente de difusión del metal en el gel

$t$  = es el tiempo de exposición

$A$  = es la sección del área expuesta

### 6.3. Resultados

Debido a que no se observaron diferencias apreciables entre los niveles muestreados, se consideraron los valores de todas las muestras de cada estación como réplicas. En la Tabla 23 se muestran los valores promedios de metales pesados disueltos en el agua de cada estación de muestreo. Las concentraciones se expresan en mili moles por centímetro cuadrado por día ( $\text{mM cm}^2 / \text{d}$ ).

Se pueden identificar tres grupos de metales en función de su concentración (Fig. 16): grupo 1: Hierro (Fe), Manganeso (Mn), Zinc (Zn) y Cobre (Cu), en concentraciones promedio superiores a  $0.6 \text{ mM cm}^2 / \text{d}$  (Tabla 23); grupo 2: Níquel (Ni) y Plomo (Pb) con concentraciones promedio superiores a  $0.1 \text{ mM cm}^2 / \text{d}$  e inferiores a  $0.4 \text{ mM cm}^2 / \text{d}$ , y grupo 3: Cromo (Cr), Cadmio (Cd), Arsénico (As) y Molibdeno (Mo), con concentraciones promedio inferiores a  $0.04 \text{ mM cm}^2 / \text{d}$ . El Hierro fue el metal pesado que alcanzó las concentraciones más altas, con valores promedios de aproximadamente  $8\text{-}9 \text{ mM cm}^2 / \text{d}$  en aguas de las estaciones 1 y 3 (Fig. 16).



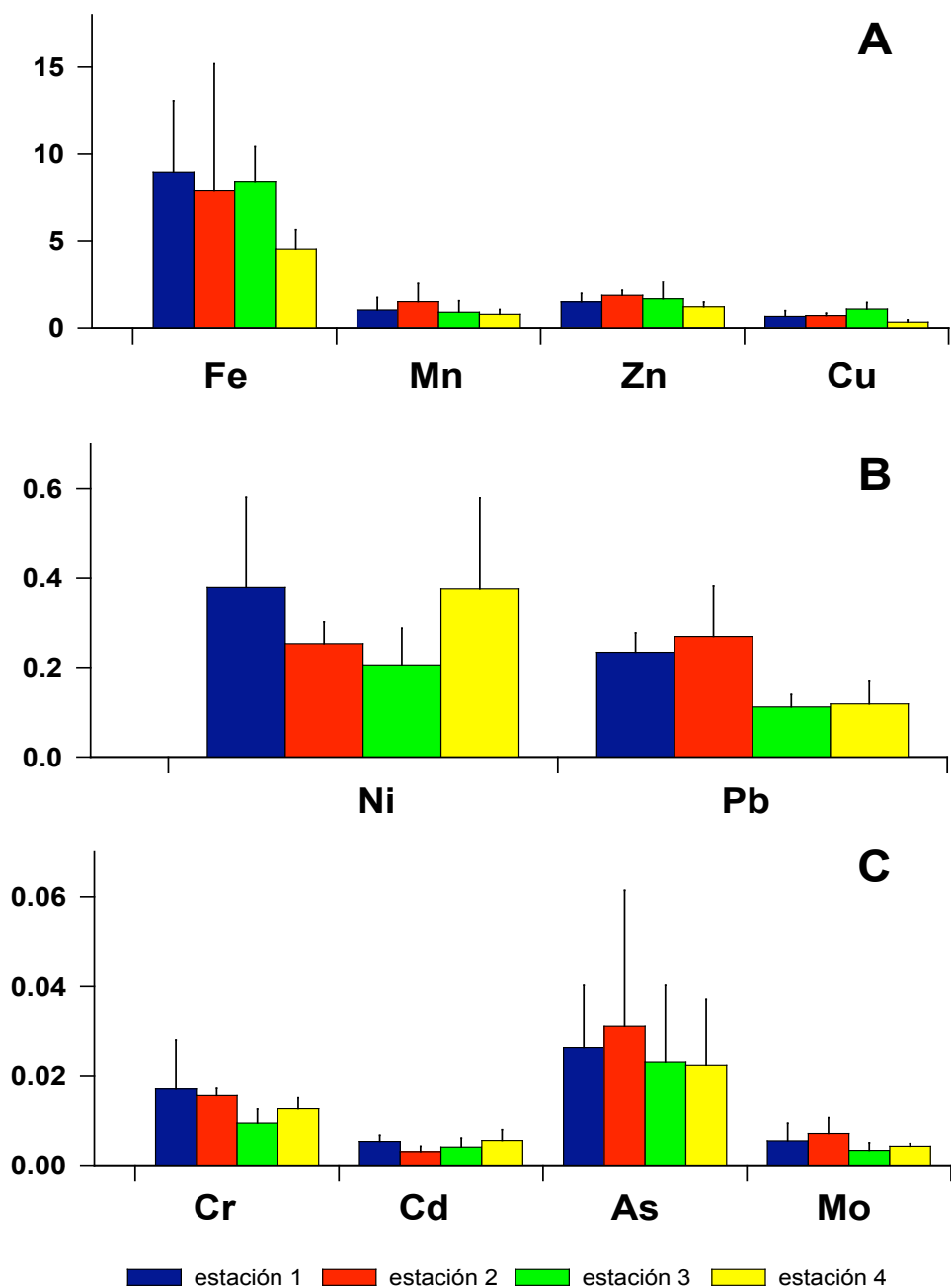


Figura 16. Concentraciones de metales pesados en solución aguas arriba del Santuario (estaciones 1, 2 y 3) y al inicio del mismo (estación 4) (ver Fig. 15). Los valores son promedios + 1 desviación estándar. **A** = metales pesados con concentraciones mayores a  $0.40 \text{ mM cm}_- / \text{d}$ , **B** = metales pesados con concentraciones mayores a  $0.10$  y menores a  $0.60 \text{ mM cm}_- / \text{d}$ , **C** = metales pesados con concentraciones inferiores a  $0.10 \text{ mM cm}_- / \text{d}$ .

Tabla 23. Concentración de metales pesados disueltos en las estaciones 1, 2, 3 y 4. Los valores son promedios con desviación estándar en paréntesis. Todos los valores están expresados en mM / cm<sup>2</sup> / día.

| Est. | Hierro      | Manganeso   | Zinc        | Cobre       | Níquel      | Plomo       | Cromo       | Cadmio      | Arsénico    | Molibdeno   |
|------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1    | 8.96 (4.09) | 1.02 (0.71) | 1.49 (0.48) | 0.66 (0.32) | 0.25 (0.05) | 0.27 (0.11) | 0.02 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.03 (0.03) | 0.01 (0.00) |
| 2    | 7.92 (7.26) | 1.50 (1.04) | 1.87 (0.27) | 0.71 (0.13) | 0.38 (0.20) | 0.23 (0.04) | 0.02 (0.01) | 0.01 (0.00) | 0.03 (0.01) | 0.01 (0.00) |
| 3    | 8.42 (1.99) | 0.90 (0.64) | 1.67 (0.99) | 1.09 (0.36) | 0.38 (0.20) | 0.12 (0.05) | 0.01 (0.00) | 0.01 (0.00) | 0.02 (0.01) | 0.00 (0.00) |
| 4    | 4.59 (1.09) | 0.78 (0.26) | 1.21 (0.26) | 0.33 (0.12) | 0.21 (0.08) | 0.11 (0.03) | 0.01 (0.00) | 0.00 (0.00) | 0.02 (0.02) | 0.00 (0.00) |

Los resultados de análisis de varianza (ANDEVA) llevados a cabo para evaluar eventuales diferencias entre las concentraciones promedio de Hierro y Manganeso (grupo 1 de metales), mostraron que no hubieron diferencias significativas entre estaciones ( $F=2.02$  y  $P=0.161$  para Hierro y  $F=0.89$  y  $P=0.472$  para Manganeso). Los resultados del test de Kruskal-Wallis para evaluar concentraciones de Zinc (test utilizado debido a que los datos no cumplen con los supuestos de ANDEVA), muestran que no ocurrieron diferencias significativas entre estaciones ( $H=5.15$  y  $P=0.161$ ). Se detectaron diferencias significativas entre las concentraciones de Cobre ( $F=8.33$  y  $P=0.002$ ). Los resultados del test *a posteriori* Tukey HSD muestran que las concentraciones de Cobre de las estaciones 1, 2 y 3 no fueron diferentes entre sí, pero fueron más altas que las calculadas para la estación 4; los mismos resultados muestran que las concentraciones de las estaciones 1 y 4 no difirieron entre sí.

Para el grupo 2, no se encontraron diferencias significativas al comparar las concentraciones de Níquel entre estaciones ( $F=1.80$  y  $P=0.196$ ). Por el contrario, se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de Plomo entre estaciones ( $F=7.36$ ,  $P=0.004$ ). Los resultados del test *a posteriori* Tukey HSD, muestran que las concentraciones de las estaciones 1 y 2 no difirieron entre sí; sólo la concentración de la estación 1 fue significativamente mas alta que la de las estaciones 3 y 4. A su vez, la concentración de la estación 2 fue similar a la de la estación 3. Finalmente las concentraciones de Plomo de las estaciones 3 y 4 no difirieron entre sí ( cf. Tabla 23).

Los resultados de análisis de varianza (ANDEVA) llevados a cabo para evaluar eventuales diferencias entre las concentraciones promedio de Cadmio, Arsénico y Molibdeno (grupo 3 de metales), mostraron que no hubieron diferencias significativas entre estaciones ( $F= 1.63$  y  $P=0.231$  para Cadmio,  $F=0.15$  y  $P=0.929$  para Arsénico y  $F=1.64$  y  $P=0.228$  para Molibdeno). Los resultados del test de Kruskal-Wallis para evaluar concentraciones de Cromo (test utilizado debido a que los datos no cumplen con los supuestos de ANDEVA), muestran que tampoco ocurrieron diferencias significativas entre estaciones ( $H=7.84$  y  $P=0.049$ ).

#### **6.4. Conclusiones**

Los resultados mencionados anteriormente, muestran que en general, la concentración de metales pesados en solución no difiere estadísticamente a lo largo del gradiente geográfico analizado en las aguas del río Cruces. Las excepciones fueron el Cobre y el Plomo los que si muestran una gradiente en la concentración de metales disueltos colectados con los geles; i.e. se encuentran valores mas bajos aguas debajo de la estación 1.

Cabe destacar que los geles utilizados sólo colectan metales que estan presentes en la columna de agua al momento de la exposición de los mismos. Esto implica que un muestreo mas prolongado, en el espacio y en el tiempo, entregaría probablemente una apreciación más definida de la cantidad y variaciones de metales pesados disponibles para la biota del ambiente acuático del río Cruces.

#### **Referencias**

DAVISON, W. & H. ZHANG (1994). In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature* 367: 546-548.

DENNEY, S., SHERWOOD, J. & J LEYDEN (1999). In situ measurements of labile Cu, Cd and Mn in river waters using DGT. *Science of the Total Environment* 239: 71-80.

PETERS, A., ZHANG, H & W DAVISON (2003) Investigation of the application of DGT devices for measurement of trace metals in low ionic strength freshwaters. *Analytica and Chimica Acta* 478: 237-244.

## 7. Calidad de los sedimentos

Se realizaron dos tipos de estudios para evaluar la calidad del sedimento: i) análisis texturales y de concentración de metales pesados y compuestos orgánicos en los sedimentos de las mismas estaciones visitadas para análisis de Luchecillo, durante el 24 de Noviembre (Tabla 13) y el 22 de Diciembre del 2004 (Tabla 14), y ii) análisis texturales y de concentración de metales pesados, compuestos orgánicos, nutrientes, cationes y aniones en muestras recolectadas durante el 23 de Noviembre del 2004, en dos sitios ubicados aguas arriba del Santuario (río Cruces, sectores Ciruelos y Rucaco), uno localizado al inicio y dos ubicados al interior del mismo (sectores Fuerte San Luis, San Martín y Santa María). En cada una de estas estaciones se recolectaron dos muestras de sedimentos (n=2). Las coordenadas de estos últimos cinco sitios se muestran en la Tabla 24.

Tabla 24. Ubicación geográfica (en coordenadas sexagesimales y UTM) de las estaciones de muestreo para el estudio de calidad de los sedimentos del Santuario y humedales adyacentes (grilla de referencia de conversión en UTM: 184xb4533604584)

| Estaciones                  | Sexagesimal   |                | UTM      |          |
|-----------------------------|---------------|----------------|----------|----------|
| Río Cruces, sector Ciruelos | 39°33'31.9''S | 072°52'99.2''W | 5521948N | 0657574E |
| Río Cruces, sector Rucaco   | 39°33'16.4''S | 072°54'14.7''W | 5615030N | 0676818E |
| Fuerte San Luis             | 39°36'81.4''S | 073°09'55.8''W | 5604584N | 0645336E |
| San Martín                  | 39°38'81.8''S | 073°11'11.5''W | 5586120N | 0652664E |
| Santa María                 | 39°39'81.1''S | 073°10'85.0''W | 5584789N | 0636595E |

### 7.1. Metodologías para análisis de texturales, granulométricos y de contenido de materia orgánica en el sedimento

Los análisis texturales de los sedimentos se realizaron siguiendo la metodología de tamizado en húmedo (Anderson *et al.* 1981). Una porción de las muestras se tamizó en húmedo a través de coladores de 2 mm y 63 micrones de abertura de trama, para separar las fracciones grava (partículas de diámetro mayor a 2 mm), arena+agregados biogénicos (partículas entre 2 mm y 63 micrones) y fango (partículas inferiores a 63 micrones). La fracción arena+agregados biogénicos se trató con ultrasonido durante 30 minutos y se tamizó a través de un colador de 63 micrones, con el objetivo de separar la fracción arena de los

agregados biogénicos. Estos últimos están representados primariamente por agregados fecales y restos de tubos habitacionales de invertebrados bentónicos. Posteriormente, estas fracciones se secaron (60°C por 24 horas) e incineraron (550° C por 6 horas). A partir de cálculos de diferencia de peso, se determinaron los porcentajes de materia orgánica total (materia orgánica carbonosa o combustible) para cada una de las fracciones y réplicas.

La suspensión coloidal con el fango obtenido en el segundo tamizado se dejó decantar. El fango decantado se enrasó en probetas de un 1 l; luego se homogenizó por agitación vertical para obtener una alícuota de 20 ml a 20 cm de la superficie de la suspensión. Esta alícuota se secó (60°C por 24 horas) e incineró (550° C por 6 horas); posteriormente, se determinó el porcentaje de materia orgánica para cada una de las réplicas mediante cálculos de diferencias de peso (Byers *et al.*, 1978).

## Referencias

Anderson, F., L. Black, L. Mayer & L. Watling 1981. A temporal and spatial study of mudflat texture. *North Eastern Geology* 3: 184-196.

Byers, S., Mills, E. & P. Steward. 1978. A comparison of methods of determining organic carbon in marine sediments, with suggestion for a standard method. *Hydrobiologia* 58: 43-47.

## 7.2. Metodologías para análisis químicos del sedimento

Los metales pesados y compuestos orgánicos de las estaciones de muestreo visitadas para los estudios de Luchecillos, se analizaron de manera similar a lo descrito anteriormente para los análisis de las plantas. Las concentraciones de AOX (“Adsorbable Organic Halogen Compounds”) en los sedimentos de las cinco estaciones muestreadas el 23 de Noviembre (i.e. estaciones ubicadas en el río Cruces sectores Ciruelos y Rucaco y en sectores Fuerte San Luis, San Martín y Santa María) se analizaron por metodología DIN 38409. Se secaron submuestras a 105° C para posteriormente recolectar un gramo de las mismas y digerir en calor con HNO<sub>3</sub> y HClO<sub>4</sub> (hasta la aparición de humos blancos). Luego se filtró y aforó para obtener un extracto digerido del cual se

obtuvieron alícuotas para la determinación de Potasio (K), Calcio (Ca) y Sodio (Na) por espectrofotometría de absorción atómica; Fósforo (P) y Boro (B) se determinaron por colorimetría. El Nitrógeno (N) se determinó por digestión en calor y posterior destilación Kjeldahl, a la vez que el Carbono (C) se evaluó por digestión húmeda y posterior titulación.

### **7.3. Resultados**

#### **7.3.1. Sedimentos asociados a estudios del lucheillo**

##### **7.3.1.1 Características texturales, granulométricos y de contenido de materia orgánica en el sedimento**

El fango (partículas menores de 63 micrones) fue la fracción dominante en los sedimentos de la mayoría de las estaciones de muestreo, tanto dentro como fuera del Santuario (Tabla 25). El porcentaje de esta fracción textural varió entre 20.26 y 78.65% (porcentajes en relación a peso seco del sedimento) durante el muestreo del 24 de Noviembre y entre 43.74 y 89.99% durante el muestreo del 22 de Diciembre del 2004 (Tabla 25). En general, los contenidos más altos de fango se encontraron en aquellas estaciones ubicadas en los tributarios del río Cruces; por ejemplo, Nanihue 1 y 2 (estaciones 10 y 11), San Antonio (estación 12), y Cudico 1 y 2 (estaciones 13 y 14) (cf. Tabla 25).

Los porcentajes de arena (partículas entre 63 y 2000 micrones) variaron entre 11.77 y 65.50% en el primer muestreo y entre 1.04 y 43.01% durante el segundo muestreo (Tabla 25). La fracción grava (partículas mayores que 2000 micrones) tuvo en general una representación porcentual inferior a 10%, con excepción de los sedimentos de Chorocamayo (estación 25) y San Ramón 3 (estación 29) donde esta fracción superó el 13% en peso (Tabla 25).

Las concentraciones más altas de agregados biogénicos (> 11% en peso) se observaron en los sedimentos de estaciones ubicadas en lugares alejados del cauce central del río Cruces; por ejemplo, Santa María 2 y 3 (estaciones 16 y 17), Cayumapu 3, 4 y 5 (estaciones 22, 23 y 24) y San Ramón 2 (estación 28) (cf. Tabla 25 y Fig. 2 y 3). Similar a lo observado con la variabilidad espacial de los agregados biogénicos (primariamente agregados fecales de organismos bentónicos), las concentraciones más altas de materia orgánica total (>20%) ocurrieron en estaciones alejadas del cauce central del río Cruces (cf. Tabla 25 y Fig. 2 y 3). Durante los dos muestreos, los sedimentos de las estaciones ubicadas

en los ríos Calle-Calle y Valdivia tuvieron contenidos de materia orgánica total inferiores al 8% (Tabla 25).

Tabla 25. Porcentajes de fango, arena, grava, agregados biogénicos y materia orgánica total de los sedimentos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes. Los números entre paréntesis hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Fig. 2 y 3)

| Estación                                | fango | arena | grava | agregados biogénicos | materia orgánica total |
|---|-------|-------|-------|----------------------|------------------------|
| <b>Muestreo realizado el 24-11-2004</b> |       |       |       |                      |                        |
| Fuerte San Luis 1 (1)                   | 38.94 | 52.63 | 3.04  | 5.38                 | 19.56                  |
| Cayumapu 1 (2)                          | 20.26 | 65.50 | 9.95  | 4.30                 | 13.24                  |
| Frente San Ramón (3)                    | 78.65 | 11.77 | 0.11  | 9.47                 | 16.43                  |
| San Ramón 1 (4)                         | 70.87 | 23.25 | 0.13  | 5.76                 | 10.81                  |
| Punucapa 1 (5)                          | 44.96 | 44.13 | 4.72  | 6.19                 | 16.10                  |
| Punucapa 2 (6)                          | 75.62 | 16.34 | 0.16  | 7.87                 | 11.26                  |
| Río Calle-Calle 1 (7)                   | 48.66 | 42.56 | 5.48  | 3.31                 | 6.01                   |
| <b>Muestreo realizado el 22-12-2004</b> |       |       |       |                      |                        |
| Fuerte San Luis 2 (8)                   | 45.52 | 43.01 | 4.79  | 6.69                 | 18.42                  |
| Sitio historico (9)                     | 71.91 | 24.60 | 0.49  | 3.00                 | 15.78                  |
| Nanihue 1 (10)                          | 88.49 | 4.48  | 3.45  | 3.57                 | 31.25                  |
| Nanihue 2 (11)                          | 89.26 | 2.31  | 1.41  | 7.01                 | 27.78                  |
| San Antonio (12)                        | 89.99 | 1.04  | 0.06  | 8.90                 | 21.93                  |
| Cudico 1 (13)                           | 89.16 | 1.12  | 0.11  | 9.61                 | 24.53                  |
| Cudico 2 (14)                           | 83.21 | 10.35 | 0.74  | 5.70                 | 23.14                  |
| Santa Maria 1 (15)                      | 79.86 | 12.10 | 0.04  | 8.00                 | 17.72                  |
| Santa Maria 2 (16)                      | 59.59 | 24.17 | 0.38  | 15.86                | 25.61                  |
| Santa Maria 3 (17)                      | 45.79 | 34.76 | 7.44  | 12.01                | 27.47                  |
| Pichoy 1 (18)                           | 86.80 | 5.50  | 0.10  | 7.60                 | 17.06                  |
| Pichoy 2 (19)                           | 82.50 | 9.87  | 0.07  | 7.55                 | 19.16                  |
| Pichoy 3 (20)                           | 85.49 | 7.97  | 0.04  | 6.51                 | 19.41                  |
| Cayumapu 2 (21)                         | 80.80 | 9.72  | 0.03  | 9.45                 | 19.50                  |
| Cayumapu 3 (22)                         | 75.77 | 11.58 | 0.05  | 12.61                | 23.08                  |
| Cayumapu 4 (23)                         | 62.95 | 13.44 | 8.72  | 14.90                | 35.95                  |
| Cayumapu 5 (24)                         | 72.27 | 9.01  | 7.62  | 11.09                | 40.87                  |
| Chorocamayo (25)                        | 43.74 | 33.06 | 15.49 | 7.71                 | 33.88                  |
| Tambillo 1 (26)                         | 78.82 | 11.79 | 0.16  | 9.23                 | 20.79                  |
| Tambillo 2 (27)                         | 56.35 | 32.68 | 1.89  | 9.08                 | 22.58                  |
| San Ramón 2 (28)                        | 73.91 | 14.05 | 0.37  | 11.67                | 16.77                  |
| San Ramón 3 (29)                        | 76.66 | 6.67  | 13.48 | 3.19                 | 28.30                  |
| Punucapa 3 (30)                         | 59.48 | 30.67 | 0.78  | 9.08                 | 13.81                  |
| Cabo Blanco (31)                        | 83.69 | 12.64 | 0.51  | 3.16                 | 12.86                  |
| Río Valdivia (32)                       | 56.12 | 38.18 | 0.14  | 5.57                 | 6.72                   |
| Río Calle-Calle 2 (33)                  | 71.75 | 23.88 | 0.91  | 3.46                 | 7.48                   |

### 7.3.1.2 Concentraciones de metales pesados en los sedimentos

La Tabla 26 muestra las concentraciones de metales pesados en los sedimentos del Santuario y humedales adyacentes durante los muestreos del 24 de Noviembre (estaciones 1 a 7) y del 22 de Diciembre del 2004 (estaciones 8 a 33).



Todas esas concentraciones se expresan en mg / kg de peso seco de la fracción fina de los sedimentos (i.e. tamaño de la partícula < 63 µm).

Tabla 26. Concentración de metales pesados (mg / kg) en los sedimentos recolectados en el Santuario de la Naturaleza y humedales adyacentes. Los números entre paréntesis hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tablas 13 y 14 y Figuras 2 y 3)

| Estación                                | Hierro   | Manganeso | Zinc   | Cobre | Niquel | Cromo | Plomo  | Cadmio | Mercurio |
|---|----------|-----------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|----------|
| <b>Muestreo realizado el 24-11-2004</b> |          |           |        |       |        |       |        |        |          |
| Fuerte San Luis 1 (1)                   | 41271.00 | 1001.00   | 190.00 | 43.20 | 16.50  | 12.00 | < 2.00 | 0.25   | 0.12     |
| Cayumapu 1 (2)                          | 49282.00 | 979.00    | 179.00 | 41.00 | 11.20  | 14.40 | < 2.00 | 0.38   | 0.27     |
| Frente San Ramón (3)                    | 49322.00 | 1143.00   | 135.00 | 41.00 | 11.70  | 16.20 | < 2.00 | 0.23   | 0.16     |
| San Ramón 1 (4)                         | 38672.00 | 462.00    | 129.00 | 46.90 | 20.10  | 18.40 | 6.05   | < 0.06 | 0.05     |
| Punucapa 1 (5)                          | 37769.00 | 414.00    | 138.00 | 41.00 | 18.70  | 14.90 | 7.27   | < 0.06 | 0.07     |
| Punucapa 2 (6)                          | 45639.00 | 694.00    | 139.00 | 46.00 | 21.10  | 17.90 | 7.12   | < 0.06 | 0.07     |
| Río Calle-Calle 1 (7)                   | 28059.00 | 309.00    | 163.00 | 39.00 | 13.80  | 12.90 | 7.27   | < 0.06 | 0.07     |
| <b>Muestreo realizado el 22-12-2004</b> |          |           |        |       |        |       |        |        |          |
| Fuerte San Luis 2 (8)                   | 47134.00 | 1580.00   | 134.00 | 74.10 | 24.00  | 13.40 | 8.61   | < 0.10 | 0.09     |
| Sitio Histórico (9)                     | 46488.00 | 1234.00   | 121.00 | 71.00 | 23.90  | 12.10 | 7.68   | < 0.10 | 0.09     |
| Nanihué 1 (10)                          | 79740.00 | 2035.00   | 111.00 | 51.60 | 14.40  | 10.00 | 5.99   | < 0.10 | 0.08     |
| Nanihué 2 (11)                          | 48056.00 | 1246.00   | 84.30  | 55.80 | 15.10  | 11.00 | 5.77   | < 0.10 | 0.09     |
| San Antonio (12)                        | 37195.00 | 898.00    | 90.10  | 56.70 | 18.20  | 10.70 | 6.52   | < 0.10 | 0.08     |
| Cudico 1 (13)                           | 36343.00 | 677.00    | 74.30  | 51.80 | 17.50  | 7.80  | 5.84   | < 0.10 | 0.08     |
| Cudico 2 (14)                           | 36243.00 | 500.00    | 91.50  | 54.20 | 17.40  | 11.50 | 7.94   | < 0.10 | 0.08     |
| Santa María 1 (15)                      | 45352.00 | 2174.00   | 107.00 | 72.40 | 18.90  | 11.50 | 7.88   | < 0.10 | 0.07     |
| Santa María 2 (16)                      | 38588.00 | 1859.00   | 116.00 | 64.30 | 22.20  | 11.00 | 6.28   | < 0.10 | 0.14     |
| Santa María 3 (17)                      | 33301.00 | 739.00    | 124.00 | 54.30 | 30.30  | 13.40 | 6.07   | < 0.10 | 0.10     |
| Pichoy 1 (18)                           | 45019.00 | 2451.00   | 141.00 | 64.20 | 19.30  | 12.30 | 7.73   | < 0.10 | 0.08     |
| Pichoy 2 (19)                           | 48219.00 | 3875.00   | 102.00 | 53.60 | 20.10  | 11.50 | 8.25   | < 0.10 | 0.79     |
| Pichoy 3 (20)                           | 42305.00 | 1680.00   | 103.00 | 56.90 | 20.20  | 10.70 | 8.67   | < 0.10 | 0.10     |
| Cayumapu 2 (21)                         | 42712.00 | 1534.00   | 96.10  | 63.50 | 18.60  | 13.00 | 7.63   | < 0.10 | 0.09     |
| Cayumapu 3 (22)                         | 44440.00 | 1729.00   | 100.00 | 65.90 | 19.40  | 12.60 | 7.82   | < 0.10 | 0.08     |
| Cayumapu 4 (23)                         | 38774.00 | 1714.00   | 130.00 | 65.10 | 18.30  | 11.10 | 8.69   | < 0.10 | 0.10     |
| Cayumapu 5 (24)                         | 25363.00 | 240.00    | 118.00 | 58.70 | 17.00  | 10.30 | 8.11   | < 0.10 | 0.10     |
| Chorocamayo (25)                        | 32544.00 | 350.00    | 107.00 | 62.30 | 16.40  | 8.80  | 6.51   | 0.13   | 0.08     |
| Tambillo 1 (26)                         | 44546.00 | 1096.00   | 102.00 | 68.90 | 21.50  | 15.40 | 5.85   | < 0.10 | 0.08     |
| Tambillo 2 (27)                         | 39965.00 | 597.00    | 108.00 | 53.80 | 23.20  | 14.30 | 3.04   | < 0.10 | 0.10     |
| San Ramón 2 (28)                        | 42853.00 | 729.00    | 100.00 | 63.50 | 20.60  | 13.10 | 6.28   | < 0.10 | 0.08     |
| San Ramón 3 (29)                        | 24532.00 | 265.00    | 80.70  | 50.80 | 17.90  | 11.20 | 7.81   | < 0.10 | 0.08     |
| Punucapa 3 (30)                         | 41129.00 | 535.00    | 106.00 | 68.50 | 19.70  | 15.00 | 4.92   | < 0.10 | 0.07     |
| Cabo Blanco (31)                        | 43101.00 | 691.00    | 104.00 | 67.60 | 21.80  | 16.20 | 7.80   | < 0.10 | 0.08     |
| Río Valdivia (32)                       | 27199.00 | 272.00    | 164.00 | 58.30 | 13.50  | 9.90  | 18.80  | < 0.10 | 0.08     |
| Río Calle-Calle 2 (33)                  | 31492.00 | 396.00    | 99.10  | 47.90 | 13.20  | 8.10  | 7.25   | < 0.10 | 0.04     |

El Hierro y el Manganeso fueron los metales pesados que presentaron las mayores concentraciones en sedimentos recolectados en las estaciones dentro del Santuario y fuera del mismo (i.e. ríos Calle-Calle y Valdivia) (Tabla 26).

En los sedimentos del Santuario, la concentración de esos metales presentó una alta variabilidad espacial. La concentración de Hierro varió entre 37769.00 y 49322.00 mg / kg en el muestreo del 24 de Noviembre y entre 24532.00 y 79740.00 mg / kg en el muestreo del 22 de Diciembre (Tabla 26 y Fig. 17). La concentración de Manganeso en los sedimentos varió entre 414.00 y 1143.00 mg / kg en el muestreo del 24 de Noviembre y entre 240.00 y 3875.00 mg / kg en el muestreo del 22 de Diciembre (Tabla 26 y Fig. 17). La concentración promedio de Hierro y Manganeso en los sedimentos del Santuario (i.e. ambos muestreos incluidos, n=30) fue de 42196.57 y 1170.70 mg / kg, respectivamente. Estas concentraciones fueron significativamente mayores, que en los sedimentos de los ríos Calle-Calle y Valdivia; 28916.67 mg / kg para el Hierro y 325.67 mg / kg para el Manganeso (i.e. ambos muestreos incluidos, n=3) (resultados de ANDEVA, F=7.08 y P=0.012 y F=7.28 y P=0.011 para Hierro y Manganeso, respectivamente).

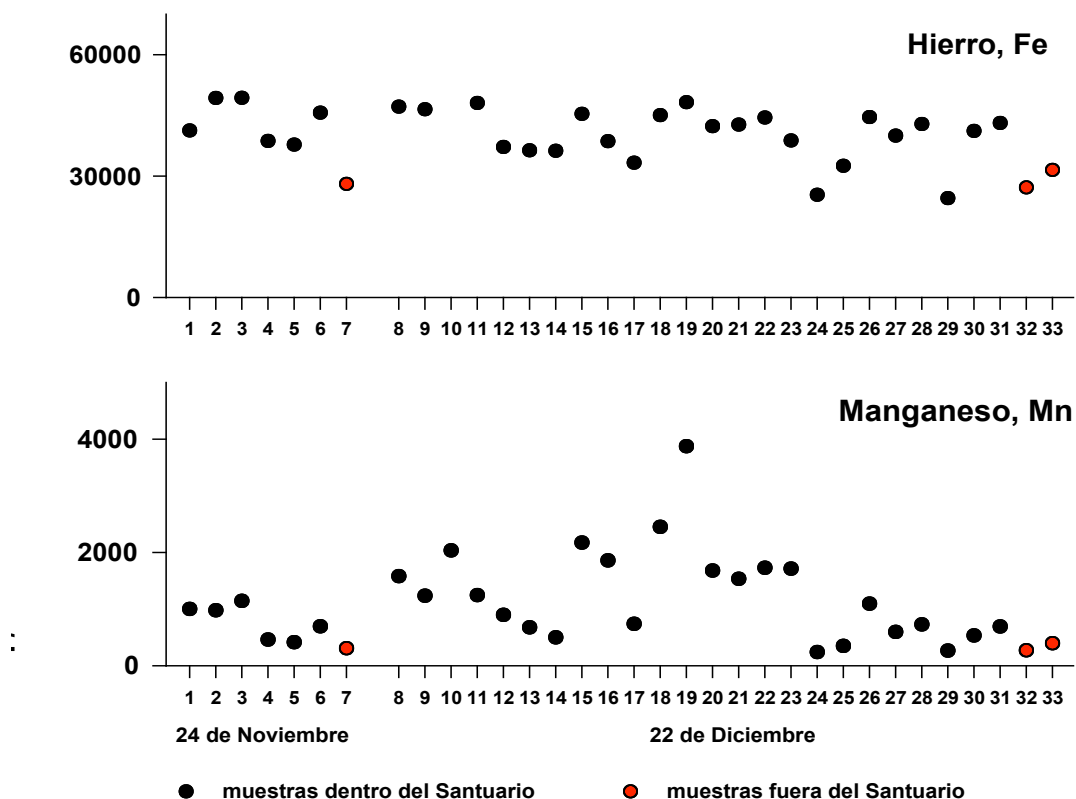


Figura 17. Variabilidad de la concentración de Hierro y Manganeso en los sedimentos del Santuario y humedales adyacentes. Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tablas 13 y 14).

Durante el muestreo del 22 de Noviembre, las mayores concentraciones de Hierro (i.e. valores  $> 45352.00$  mg / kg) se presentaron en los sedimentos de las estaciones 2, 3 y 6 (Cayumapu 1, frente a San Ramón y Punucapa 2, Fig. 18). En el muestreo del 22 de Diciembre, las concentraciones más altas de este metal (i.e. valores mayores a  $45352.00$  mg / kg) se encontraron en los sedimentos del sector norte del Santuario (i.e. estaciones 8 a 11, Fig. 19). En general, las concentraciones más altas de Manganeso durante ambos muestreos (i.e. valores  $> 898$  mg / kg), se presentaron en la parte media superior del área (i.e. Cayumapu al norte), aún cuando hubieron estaciones en esa área con concentraciones más bajas (Fig. 20 y 21

## Muestreo del 24 de Noviembre del 2004

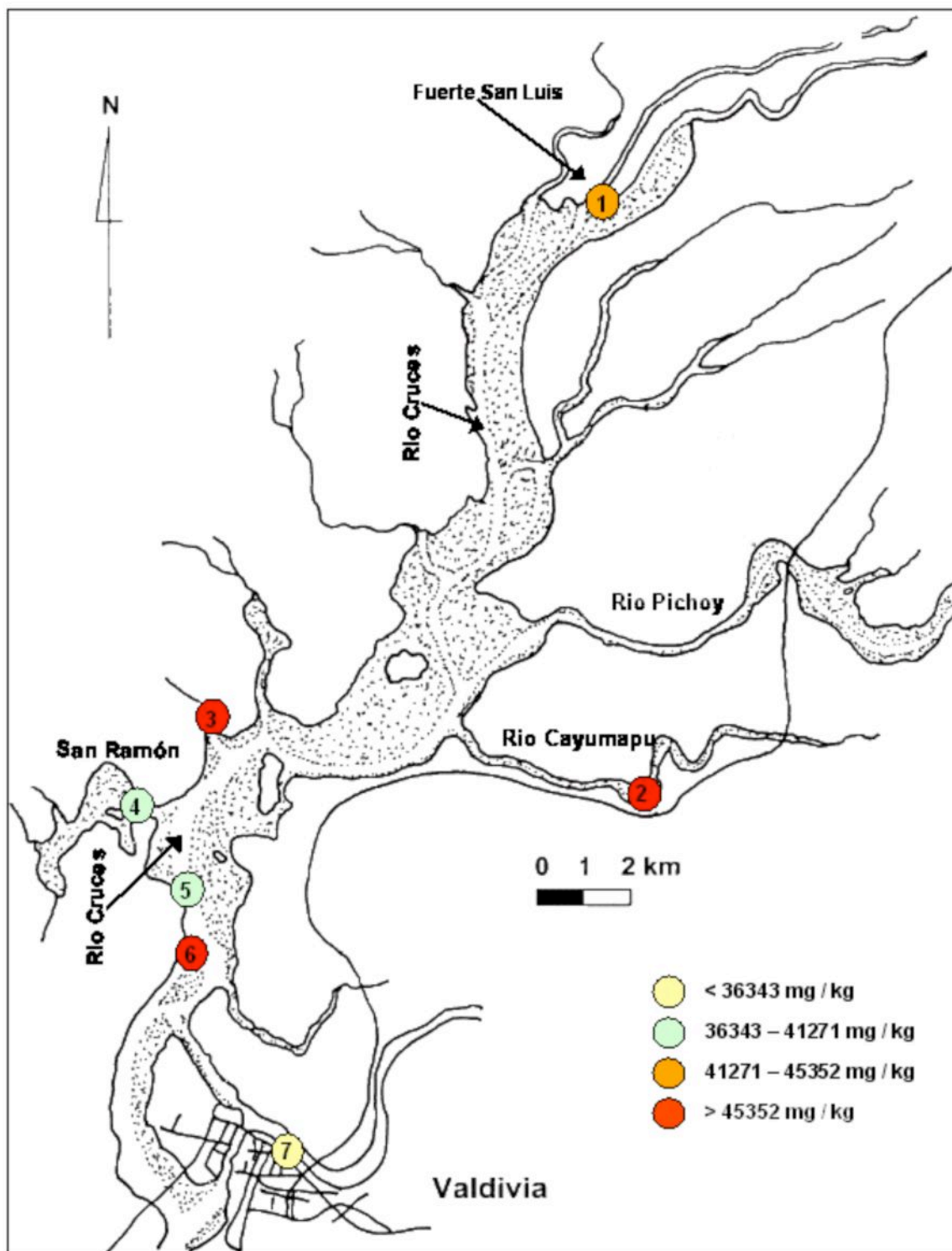


Figura 18. Variabilidad espacial de la concentración de Hierro en los sedimentos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 24 de Noviembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 13).

## Muestreo del 22 de Diciembre del 2004

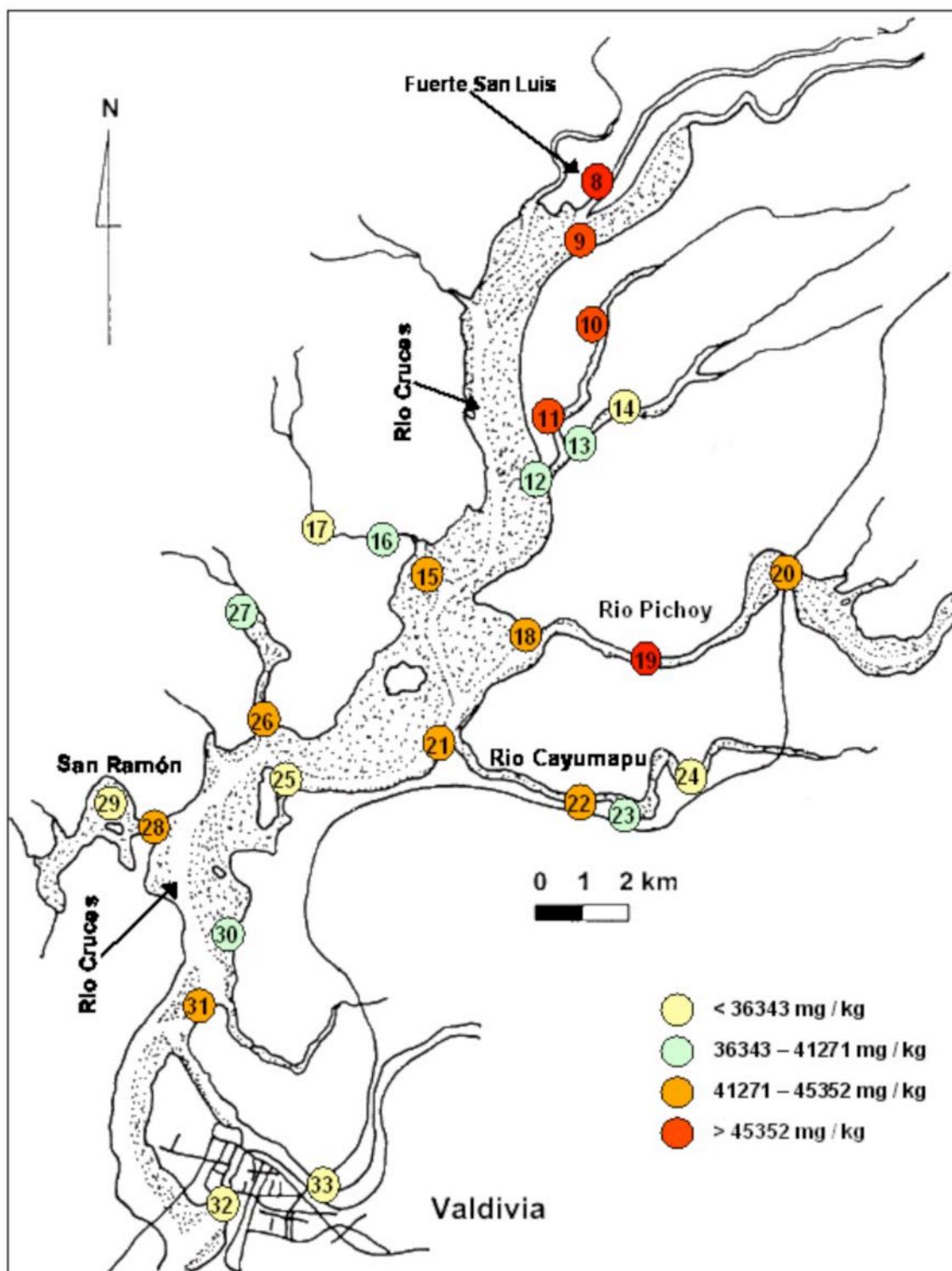


Figura 19. Variabilidad espacial de la concentración de Hierro en los sedimentos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 22 de Diciembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 14).

## Muestreo del 24 de Noviembre del 2004

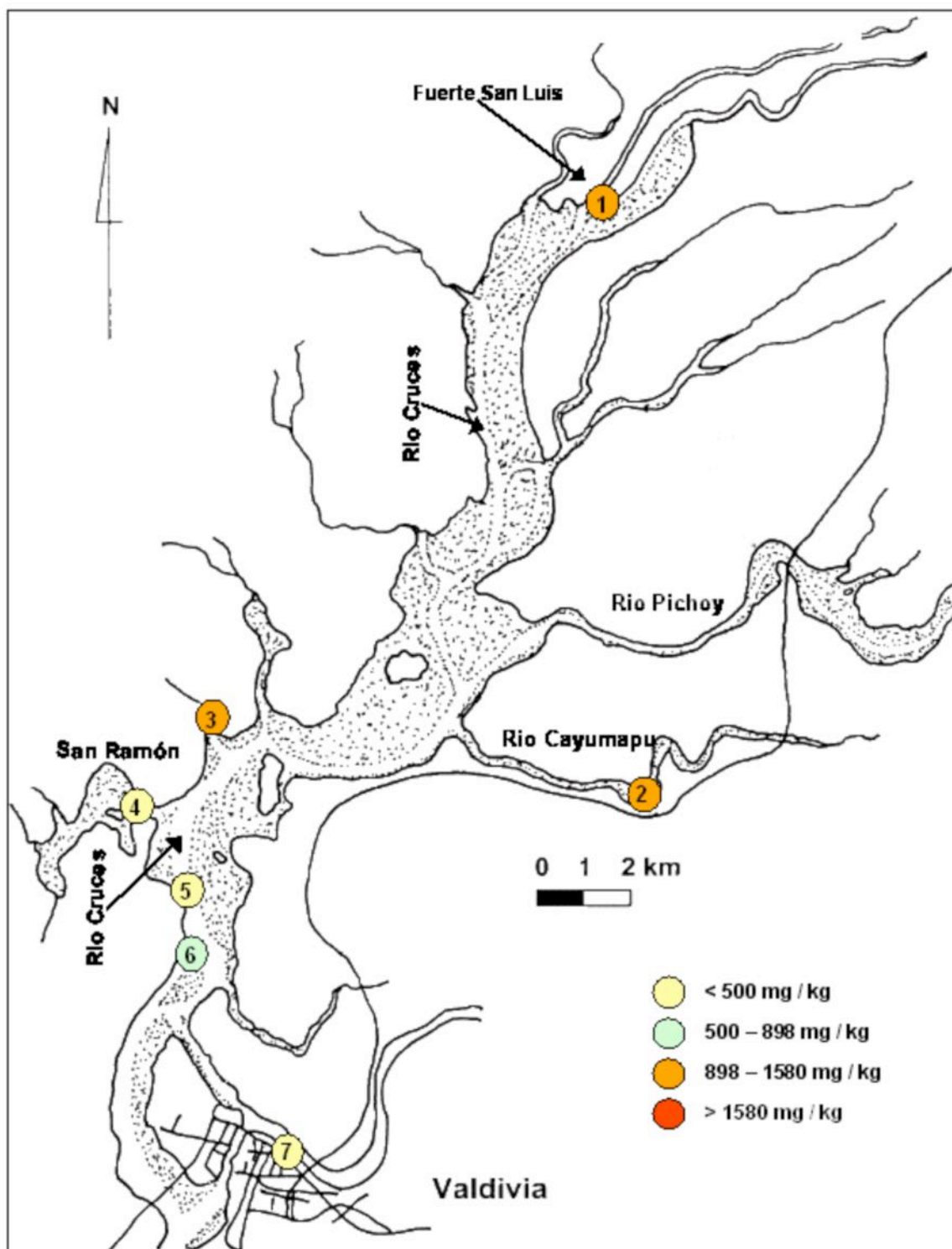


Figura 20. Variabilidad espacial de la concentración de Manganeso en los sedimentos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 24 de Noviembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 13).

## Muestreo del 22 de Diciembre del 2004

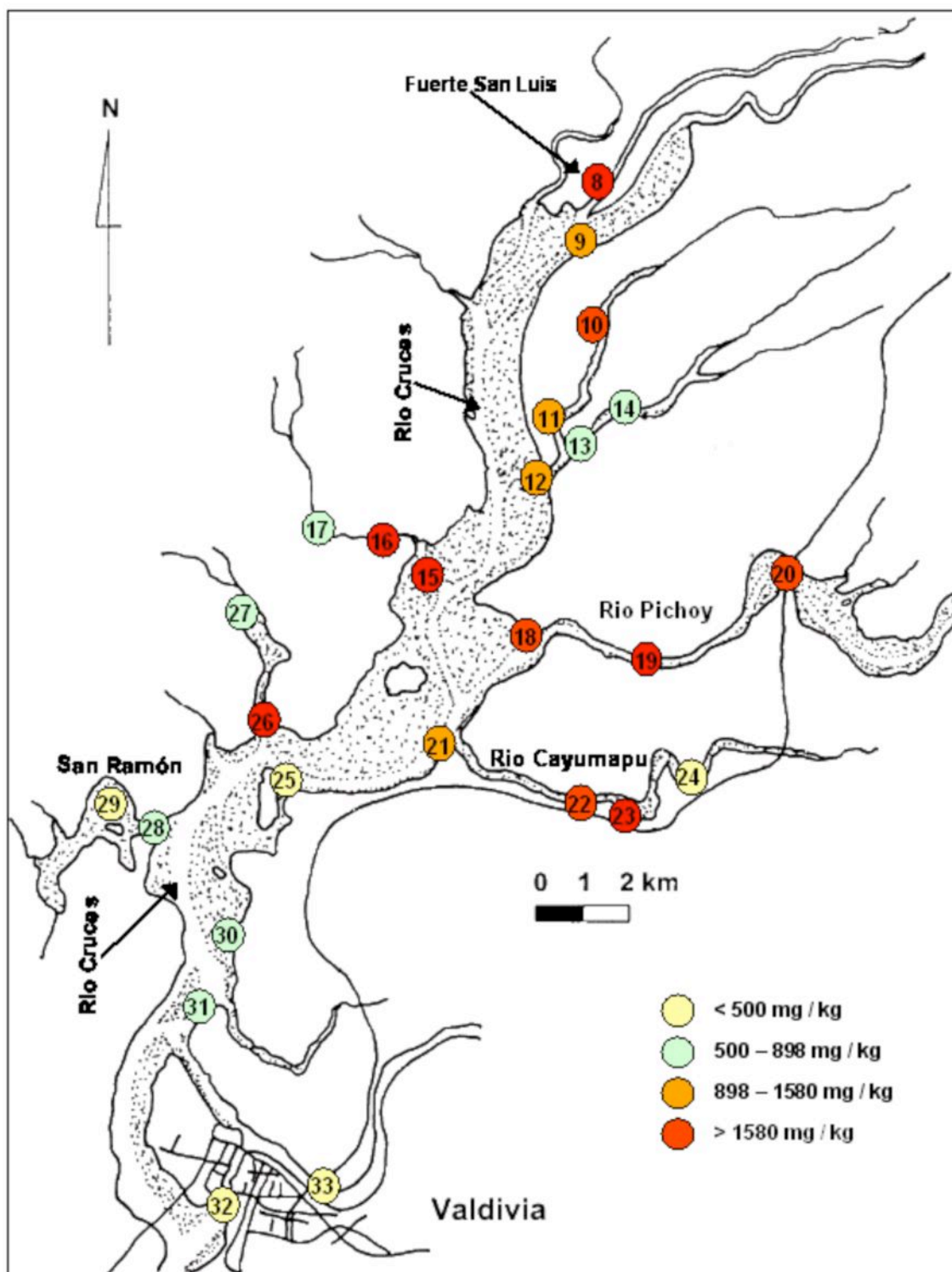


Figura 21. Variabilidad espacial de la concentración de Manganeso en los sedimentos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 22 de Diciembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 14).

El Zinc y el Cobre fueron los metales con las concentraciones más altas en el sedimento, después del Hierro y Manganeseo. En los sedimentos del Santuario, las concentraciones de Zinc variaron entre 129.00 y 190.00 mg / kg y entre 74.30 y 141.00 mg / kg, durante los muestreos del 24 de Noviembre y del 22 de Diciembre, respectivamente (Tabla 26 y Fig. 22). En esos mismos sedimentos, la concentración de Cobre varió entre 41.00 y 46.90 mg / kg y entre 50.80 y 74.10 mg / kg durante el primero y segundo muestreo. (cf. Tabla 26 y Fig. 22). La concentración promedio de Zinc en los sedimentos del Santuario (115.37 mg / kg; n=30) no difirió significativamente de la concentración de este metal en los sedimentos fuera del mismo (142.03 mg / kg; n=3) (ANDEVA, F=2.71 y P=0.110). Similarmente, las concentraciones de Cobre en los sedimentos del Santuario (57.62 mg / kg; n=30) y fuera del mismo (48.40 mg / kg; n=3) no difirieron significativamente entre sí (ANDEVA, F=2.42 y P=0.130).

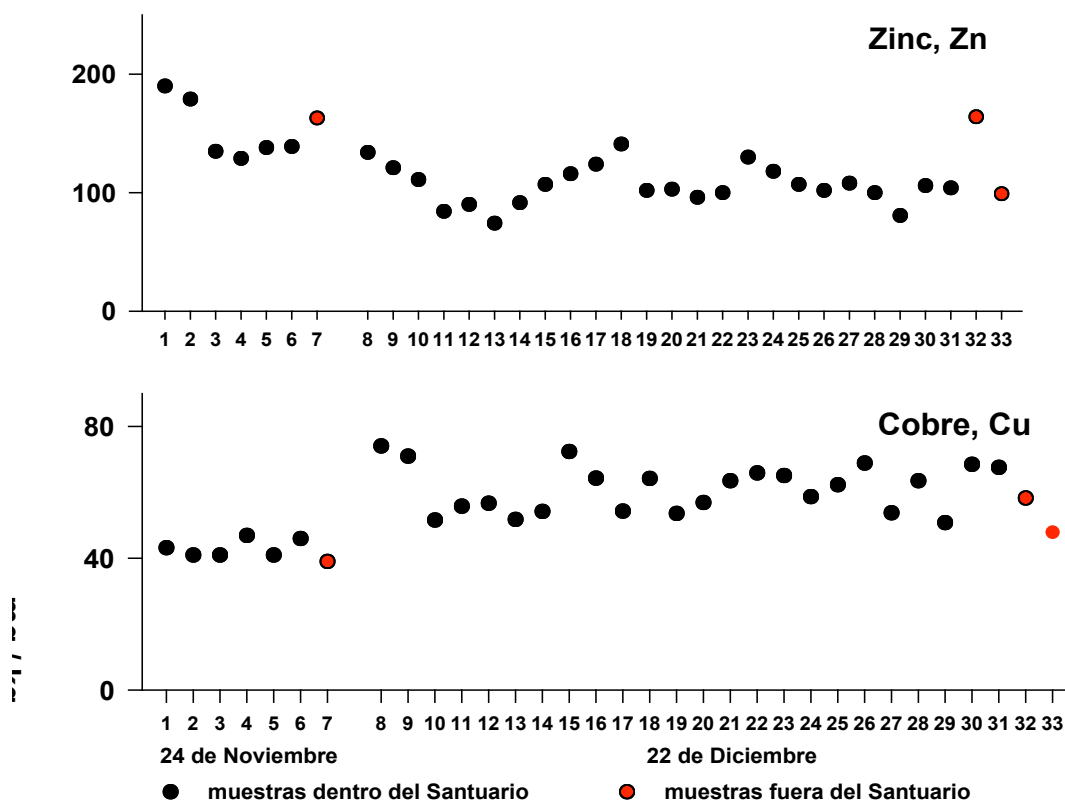


Figura 22. Variabilidad de la concentración de Zinc y Cobre en los sedimentos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes. Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tablas 13 y 14).



El Níquel y el Cromo fueron los metales que siguieron en importancia a los metales mencionados anteriormente. Las concentraciones de Níquel en los sedimentos del Santuario variaron entre 11.20 y 21.10 mg / kg y entre 14.40 y 30.30 mg / kg, durante los muestreos del 24 de Noviembre y del 22 de Diciembre, respectivamente (cf. Tabla 26 y Fig. 23). En esos mismos sedimentos, el Cromo varió entre 12.00 y 18.40 mg / kg y entre 7.80 y 16.20 mg / kg durante el primero y segundo de los muestreos realizados (cf. Tabla 26 y Fig. 23). La concentración promedio de Níquel en los sedimentos del Santuario (19.17 mg / kg; n=30) fue significativamente mayor a la de los sedimentos fuera del mismo (13.50 mg / kg; n=3) (ANDEVA;  $F=7.43$  y  $P=0.010$ ). Las concentraciones de Cromo en los sedimentos del Santuario (12.72 mg / kg; n=30) no difirieron significativamente de las de los sedimentos recolectados fuera del mismo (10.30 mg / kg; n=3) (ANDEVA,  $F=2.53$  y  $P=0.374$ ).

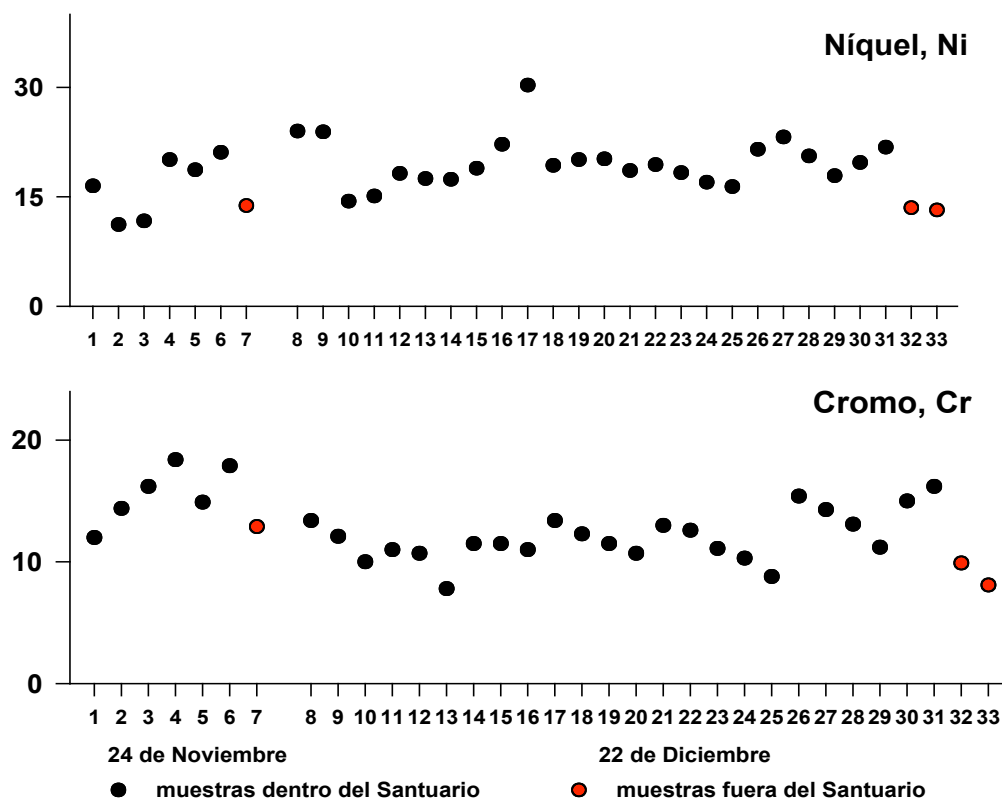


Figura 23. Variabilidad de la concentración de Níquel y Cromo en los sedimentos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes. Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tablas 13 y 14).

Plomo, Cadmio y Mercurio fueron los metales pesados que presentaron las concentraciones más bajas en el sedimento (Tabla 26). En los sedimentos recolectados en el Santuario, el Plomo fue detectado en concentraciones superiores a 2 mg / kg en tres estaciones durante el muestreo del 24 de Noviembre (valores entre 6.05 y 7.27 mg / kg) y entre 3.04 y 8.69 mg / kg durante el muestreo de Diciembre (Tabla 26, Fig. 24).

La concentración promedio de Plomo en los sedimentos recolectados fuera del Santuario (11.11 mg / kg; n=3) fue significativamente más alta que la encontrada en los sedimentos del Santuario (6.97 mg / kg; n=27) (ANDEVA, F=6.02 y P=0.020).

Concentraciones de Cadmio superiores a 0.10 mg / kg se detectaron en tres estaciones del Santuario durante el muestreo del 24 de Noviembre y sólo en una durante el muestreo del 22 de Diciembre (valor promedio de 0.13 mg / kg (Tabla 26, Fig. 24). En los sedimentos del Santuario, las concentraciones de Mercurio variaron entre 0.05 y 0.27 mg / kg y entre 0.07 y 0.79 mg / kg, durante los muestreos del 24 de Noviembre y del 22 de Diciembre, respectivamente (Tabla 26 Fig. 24).

Las concentraciones promedios de Mercurio no presentaron diferencias significativas (ANDEVA, F=1.14 y P=0.292) al comparar los datos de los sedimentos recolectados en el Santuario (0.12 mg / kg; n=30) y los de los sedimentos recolectados fuera del mismo (0.06 mg / kg, n=3).

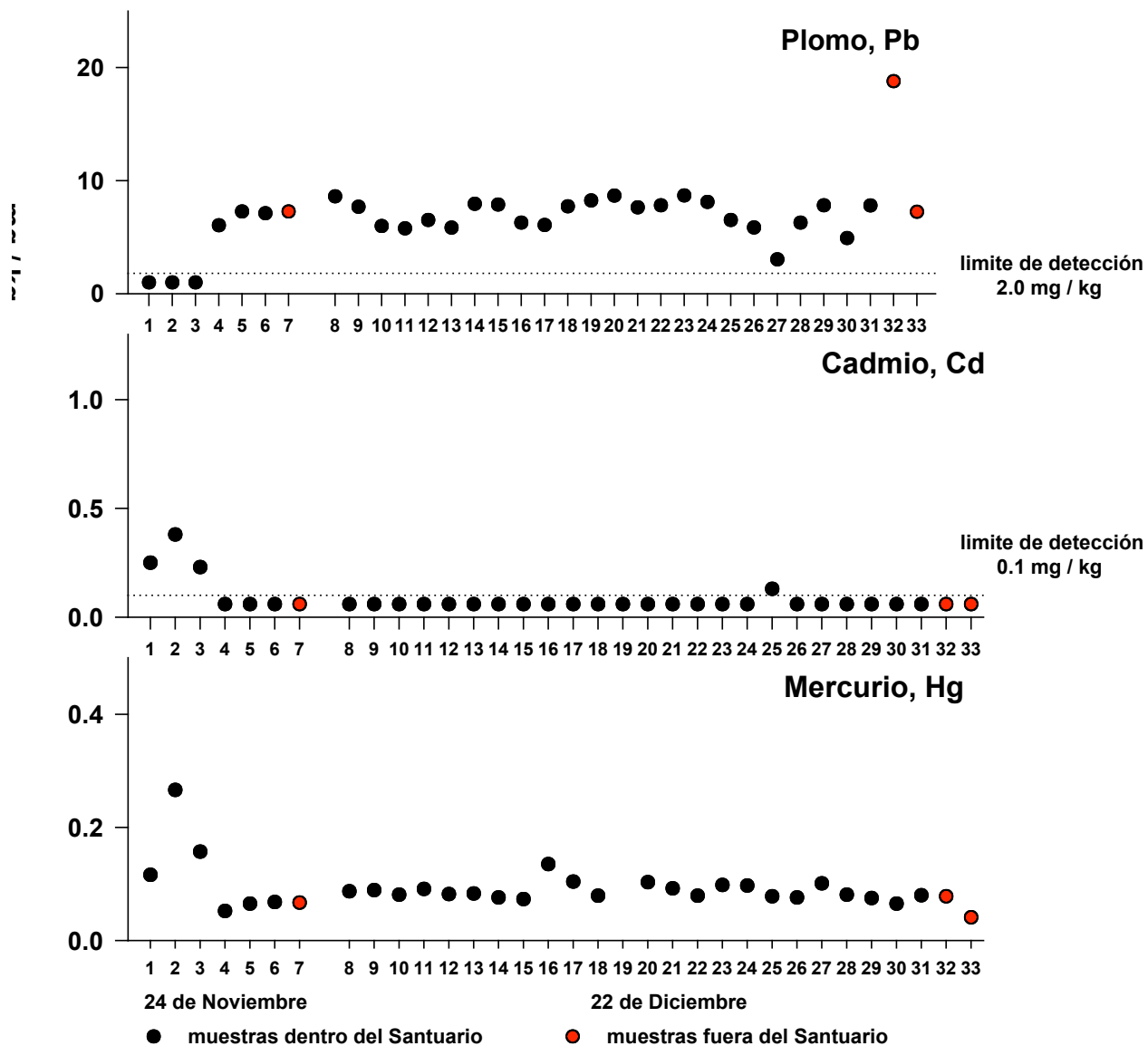


Figura 24. Variabilidad de la concentración de Plomo, Cadmio y Mercurio en los sedimentos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes. Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tablas 13 y 14).

La Figura 25 muestra los valores de las proporciones entre las concentraciones de metales pesados en sedimentos recolectadas en el Santuario y las de sedimentos recolectados fuera del mismo. Los sedimentos del Santuario tuvieron mayores concentraciones de Hierro, Manganeso, Niquel, y Mercurio que los sedimentos recolectados fuera del mismo (1.46, 3.59, 1.42 y 1.89 veces más alto). Las concentraciones de Zinc, Cobre y Cromo fueron similares entre ambos

grupos de sedimentos (proporciones de 0.81, 1.19 y 1.23, respectivamente). A su vez, la concentración de Plomo fue más baja en los sedimentos del Santuario, que en relación a los sedimentos estudiados fuera del mismo (proporción de 0.63).

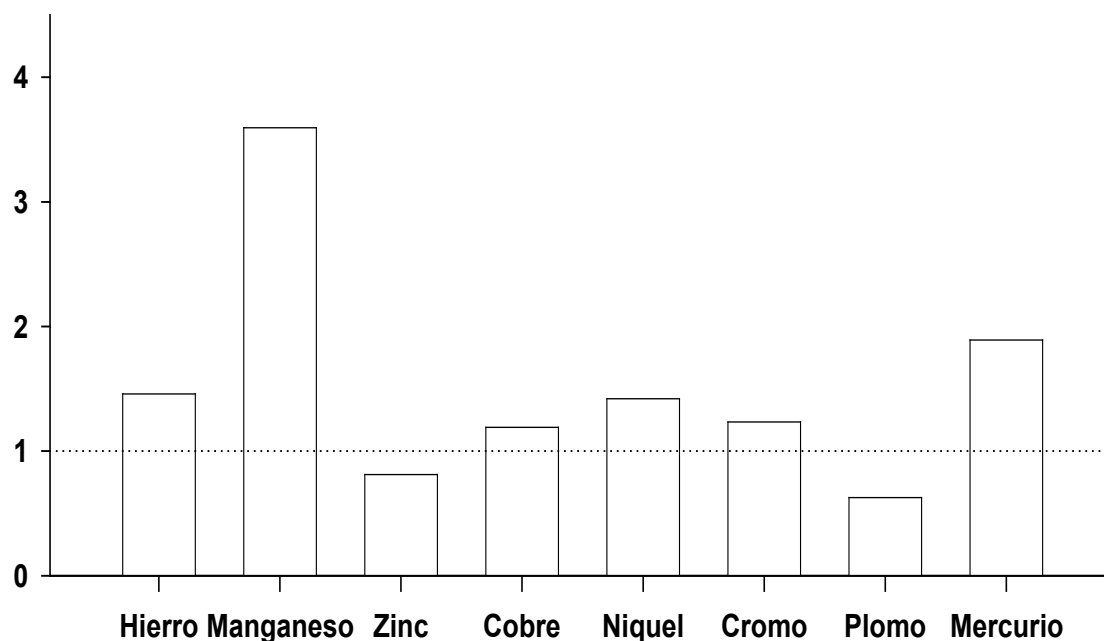


Figura 25. Proporciones entre las concentraciones de metales pesados en sedimentos recolectadas en el Santuario y sedimentos recolectados fuera del mismo (ambos muestreos realizados). Valores superiores a 1 indican mayores concentraciones en los primeros y *viceversa*.

### 7.3.1.3 Concentraciones de compuestos orgánicos en los sedimentos

Durante ambos muestreos (24 de Noviembre y 22 de Diciembre del 2004), no se detectaron fenoles clorados ni pesticidas organoclorados en los sedimentos analizados (límite de detección de alrededor de 66 mug/kg). Al igual que en el caso de las muestras de *Egeria densa*, se detectó una gran cantidad de compuestos de origen natural y algunos xenobióticos: \_\_-pineno, \_\_-cubebeno, ftalatos (xenobióticos), hidrocarburos y un compuesto asignado como Tributil fosfato (TBF) (en este caso no se logró una detección con superposición espectral por sobre el 90%, sobre una base de 140.000 compuestos).

Durante el muestreo del 24 de Noviembre, los ftalatos se detectaron en todos los sedimentos analizados, mientras que el \_\_-pineno y \_\_-cubebeno se detectaron en los sedimentos de las estaciones Fuerte San Luis 1 (estación 1) y Punucapa 2 (estación 6). Sólo en esta última estación se detectó el compuesto identificado como TBF (Fig. 26).

Durante el muestreo del 22 de Diciembre del 2004, los xenobióticos denominados ftalatos se encontraron en todas las muestras, excepto en las estaciones ubicadas en Cabo Blanco (estación 31), río Calle-Calle 2 (estación 33) y río Valdivia (estación 32). Los compuestos \_\_-pineno y \_\_-cubebeno se detectaron en todas las muestras del Santuario y humedales adyacentes, con excepción de las recolectadas en Sitio Histórico (estación 9), Cudico 2 (estación 14), Cabo Blanco (estación 31) y los sedimentos de la estación río Valdivia (estación 32) y río Calle-Calle 2 (estación 33). El compuesto identificado como TBF fue detectado en casi todos los sedimentos analizados con excepción del Sitio Histórico (estación 9), Pichoy 2 y 3 (estaciones 19 y 20), Cayumapu 5 (estación 24), Chorocamayo (estación 25), Tambillo 2 (estación 27), San Ramón 3 (estación 29), Cabo Blanco (estación 31) y los sedimentos de las estaciones río Valdivia y Calle-Calle 2 (estaciones 32 y 33) (Fig. 27).

Se ha puesto énfasis en la presencia de estos compuestos ya que el compuesto identificado como TBF, probablemente sea de origen antropogénico, mientras que el \_\_-pineno, aún cuando se trata de un compuesto natural, no es común encontrarlo en fondos sedimentarios. Este último se encuentra principalmente en el eucalipto y otros vegetales. En este caso, su presencia parece delatar un “input” de origen antropogénico pudiendo ser un indicador o trazador para emisiones líquidas, debido a que se encuentra focalizado principalmente en el Santuario. Análisis de muestras de sedimentos, en estudios paralelos (realizados en la Bahía de Corral) no indican la presencia de \_\_-pineno o \_\_-cubebeno. Las plantas de Luchecillo, visiblemente sanas y provenientes de sitios aparentemente no contaminados, no muestran la \_\_-pineno; sin embargo, este compuesto se

detecto a nivel de trazas en algunas de las muestras de plantas aparentemente dañadas recolectadas en el Santuario.

Los hidrocarburos están presentes en todas las muestras de sedimentos, con un Índice de Preferencia de Carbono total de n-C14 a n-C36 mayor que uno (proporción de la suma de alcanos de número impar de carbonos a la suma de alcanos de número par de carbonos). Tal proporción sugiere un “input” biogénico, básicamente de vegetales (UNEP, 1992).

## Muestreo del 24 de Noviembre del 2004

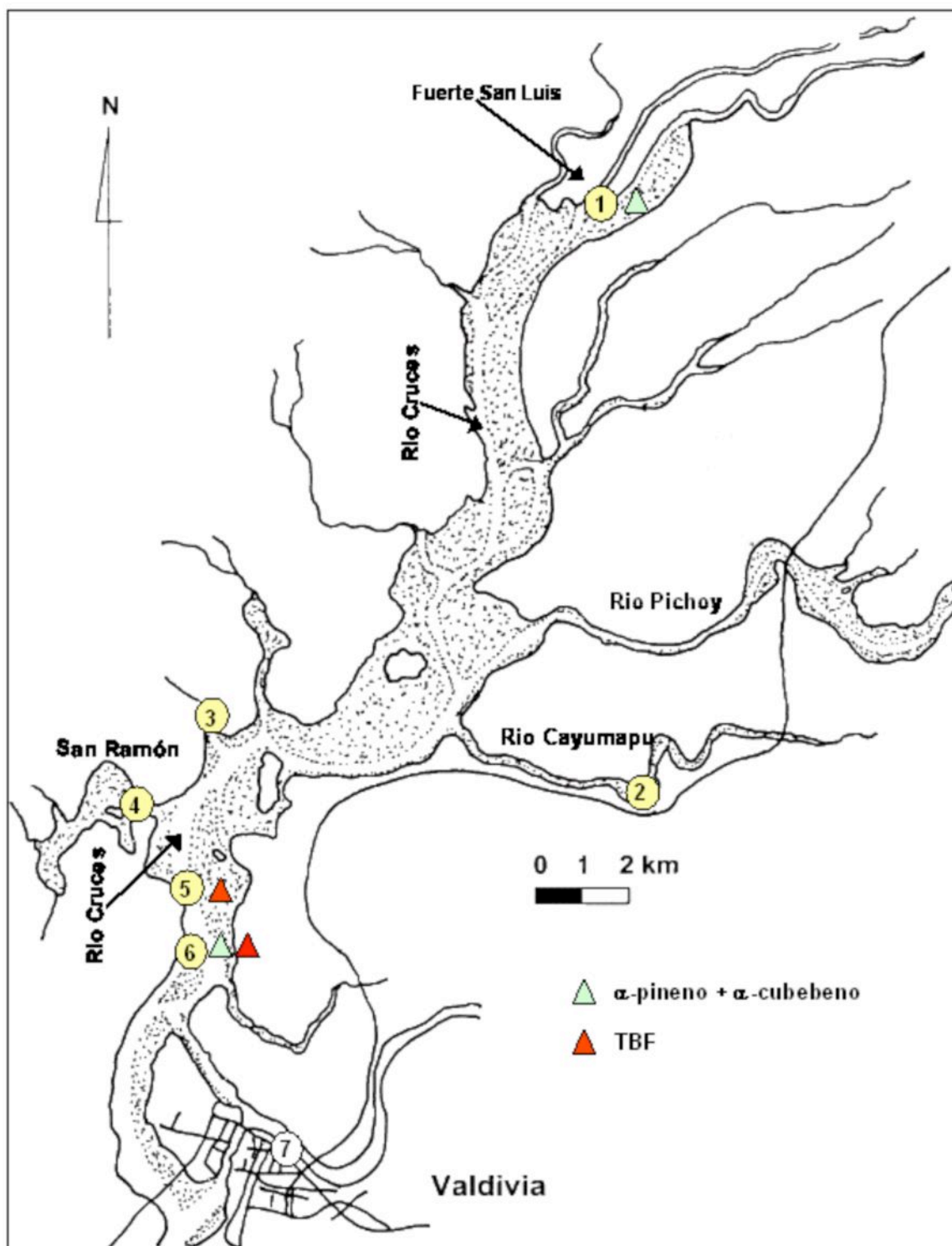


Figura 26. Presencia de algunos compuestos orgánicos detectados en muestras de sedimentos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 24 de Noviembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 13).

## Muestreo del 22 de Diciembre del 2004

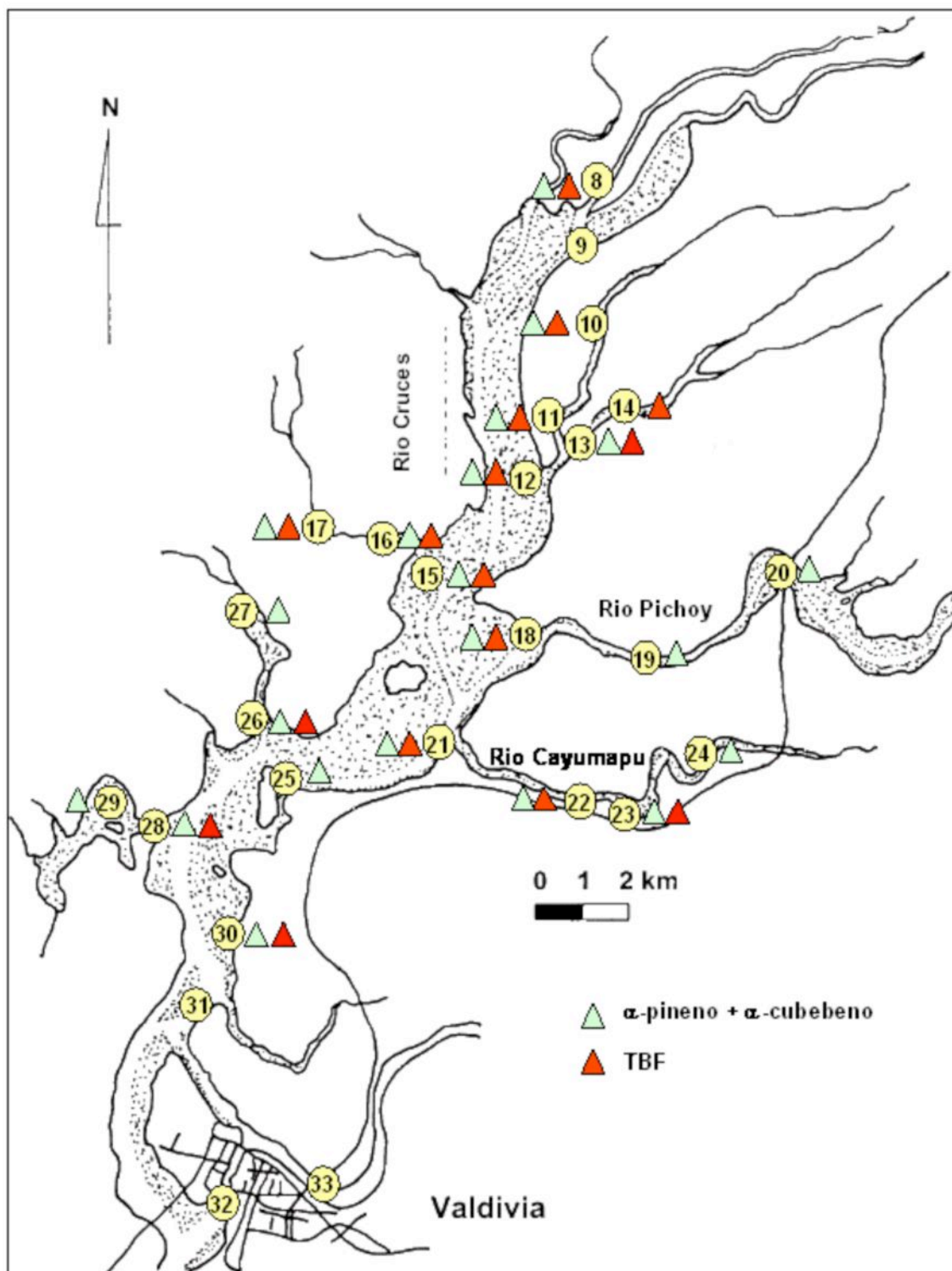


Figura 27. Presencia de algunos compuestos orgánicos detectados en muestras de sedimentos recolectados en el Santuario y humedales adyacentes (muestreo del 22 de Diciembre del 2004). Los números hacen referencia a la identificación de cada una de las estaciones muestreadas (ver Tabla 13).



### **7.3.2. Estudio para análisis de calidad de sedimentos en sitios ubicados dentro del Santuario y aguas arriba del mismo**

La Tabla 27 muestra los resultados de los análisis tendientes a caracterizar los sedimentos de dos estaciones ubicadas aguas arriba del Santuario (sectores Ciruelos y Rucaco), una al comienzo del Santuario (estación Fuerte San Luis) y dos estaciones al interior del mismo (estaciones San Martín y Santa María). Esta caracterización se basa en las características texturales y las concentraciones de metales pesados, nutrientes (CNP), aniones y cationes y compuestos orgánicos (compuestos fenólicos, fenólicos halogenados, organoclorados, AOX y organofosforados, entre otros) de esos sedimentos.

#### **7.3.2.1. Textura**

En los sedimentos de las estaciones ubicadas aguas arriba del Santuario (i.e. estaciones en sectores Ciruelos y Rucaco) y al inicio del mismo (Fuerte San Luis), la fracción sedimentológica dominante fue la arena. Esta varió entre valores promedios ( $n=2$ ) de 66.15 y 89.64% en los sedimentos del Fuerte San Luis y Rucaco, respectivamente (Tabla 27). El fango presentó valores porcentuales inferiores al 30%, fluctuando entre 10.21 y 26.44% (sector Rucaco y Fuerte San Luis), respectivamente. La grava y los agregados biogénicos presentaron en general valores inferiores al 6%. La grava varió entre 0.11 y 5.12% (sectores de Rucaco y Ciruelos, respectivamente), mientras que los agregados biogénicos variaron entre 0.03 y 4.93% (sectores Rucaco y Fuerte San Luis, respectivamente). La materia orgánica total en los sedimentos, presentó valores relativamente bajos en la estación del sector Rucaco (4.6 %), mientras que en las estaciones del sector Ciruelos y del Fuerte San Luis fue de 11.03 y 10.67%, respectivamente (Tabla 27).

En contraste a lo anterior, el fango fue la fracción sedimentológica dominante en los sedimentos de las estaciones ubicadas en los sectores de San Martín y Santa María (i.e. al interior del Santuario), con valores promedios de 71.83 y 78.04%, respectivamente (Tabla 27). La arena y agregados biogénicos presentaron valores que variaron entre 17.05 y 10.93% y entre 10.89 y 10.97% en

San Martín y Santa María, respectivamente (Tabla 27). La grava presentó valores inferiores al 1%. La concentración de materia orgánica total en los sedimentos de las estaciones ubicadas al interior del Santuario, varió entre 19.05 y 22.15% en Santa María y San Martín, respectivamente (Tabla 27).

### **7.3.2.2. Metales pesados**

Las determinaciones de metales pesados en los sedimentos de los sitios muestreados en los sectores de Ciruelos y Rucaco en el río Cruces, se encuentran en proceso de determinación. Por lo tanto, el siguiente análisis se concentra en los sedimentos de las estaciones de los sectores del Fuerte San Luis, San Martín y Santa María.

En los sedimentos de los sectores Fuerte San Luis, San Martín y Santa María, los metales pesados que presentaron las concentraciones más altas fueron el Hierro y el Manganeso, con valores superiores a los 40000 y 500 mg / kg, respectivamente. Las concentraciones promedios de Hierro y Manganeso en los sedimentos cercanos al Fuerte San Luis fueron 44345.50 y 545.50 mg / kg, respectivamente (Tabla 27). En los sedimentos del sector de San Martín, esas concentraciones fueron de 537550.00 y 1817.00 mg / kg, mientras que en los sedimentos de Santa María fueron de 43471.50 y 1400.50 mg / kg, respectivamente (Tabla 27).

Los metales pesados que siguieron en importancia al Hierro y el Manganeso fueron el Zinc y el Cobre, con concentraciones promedio superiores a los 120 y 40 mg / kg, respectivamente (Tabla 27). Las concentraciones de Zinc variaron entre 12.50 y 197.00 mg / kg, en los sedimentos cercanos al Fuerte San Luis y a Santa María, respectivamente (Tabla 27). A su vez, las concentraciones de Cobre variaron entre 48.65 mg / kg en los sedimentos de San Martín y 56.75 mg / kg en los sedimentos de Santa María (Tabla 27).

Las concentraciones promedio de Níquel, Cromo y Plomo presentaron una baja variabilidad entre los sedimentos de las tres estaciones analizadas. Los valores de Níquel variaron entre 18.40 y 20.50 mg / kg, en los sedimentos del sector Fuerte San Luis y Santa María, respectivamente (Tabla 27). A su vez, las concentraciones de Cromo variaron entre 13.35 mg / kg (sedimentos cercanos al sector San Martín) y 14.9 mg / kg (sedimentos cercanos a Santa María). Las concentraciones de Plomo variaron entre 4.96 y 7.95 mg / kg, en los sedimentos cercanos a Santa María y al Fuerte San Luis, respectivamente (Tabla 27).

En los nueve metales pesados analizados, el Cadmio y el Mercurio son los elementos que presentaron las concentraciones promedio más bajas. En los sedimentos cercanos al sector San Martín, el Cadmio no fue detectado (límite de detección del método utilizado 00.6 mg / kg), mientras que en los sedimentos cercanos al Fuerte San Luis este metal fue detectado en solo en una de las muestras analizadas (0.14 mg / kg). En los sedimentos cercanos al sector Santa María la concentración promedio de este metal fue de 0.09 mg / kg (Tabla 27). Las concentraciones promedio de Mercurio variaron entre 0.08 mg / kg en los sedimentos cercanos a los sectores de San Martín y Santa María y 0.06 mg / kg en los sedimentos cercanos al Fuerte San Luis (Tabla 27)

Las concentraciones de metales pesados encontradas en los sedimentos del Santuario (i.e. estaciones Fuerte San Luis, San Martín y Santa María) fueron comparadas con datos obtenidos entre los años 1994 y 1998 (datos históricos, provenientes de distintas investigaciones realizadas por investigadores y estudiantes de la UACH). Estos datos históricos se agruparon e identificaron de la siguientes manera;

- i) Río Calle-Calle: tres estaciones ubicadas entre Huellelhue y Collico
- ii) Río Cau-Cau: dos estaciones, una frente al Jardín botánico de la UACH y otra frente a INFOR

- ii) Río Valdivia 1: tres estaciones ubicadas entre el Club Deportivo Phoenix y ribera frente a calle Los Pelúes.
- iv) Río Valdivia 2: dos estaciones ubicadas en el sector de Isla San Francisco
- v) Bahía de Corral: dos estaciones ubicadas en sector Canelos y Mancera

La Tabla 28 resume las concentraciones de metales pesados encontradas en los sedimentos del Santuario y en los sedimentos de las estaciones indicadas arriba. No se realizaron comparaciones relacionadas con las concentraciones de Manganeso en los sedimentos, básicamente por la falta de datos históricos para las concentraciones de este metal en los sedimentos.

En general, las concentraciones de Hierro, Zinc y Cobre fueron mayores en los sedimentos del Santuario comparadas con las concentraciones en los sedimentos de todos los sectores analizados. Por ejemplo, la concentración promedio de Hierro fue de 47190.67 mg / kg en el Santuario, mientras que en los sedimentos de los otros sectores varió entre 26300.00 y 34600 mg / kg (Tabla 28). A su vez, las concentraciones de Zinc en los sedimentos del Santuario fueron de 160.67 mg / kg, mientras que en los otros sedimentos varió entre 21.81 y 46.51 mg / kg (Tabla 28). Las concentraciones de Cobre fueron de 52.02 mg / kg en los sedimentos del Santuario, *versus* 14.63-27.28 mg / kg en los sedimentos fuera del mismo (Tabla 28). En contraste a lo mencionado para el Hierro, Zinc y Cobre, las concentraciones de Cadmio y Mercurio fueron relativamente menores en los sedimentos del Santuario (Tabla 28). Para el Níquel y Cromo no se observa un patrón claro al comparar los sedimentos del Santuario con los de otros sectores del área estuarial de Valdivia (Tabla 28).

Tabla 28. Comparación de las concentraciones de metales pesados (mg / kg peso seco) en los sedimentos recolectados en el Santuario de la Naturaleza y en sedimentos provenientes de otros sectores del área estuarial de Valdivia (datos históricos). Los valores son promedio con la desviación estándar en paréntesis; se muestra también el número de muestras para cada sector.

| Sectores        | Hierro             | Zinc           | Cobre         | Niquel       | Cromo         | Plomo        | Cadmio      | Mercurio    |
|-----------------|--------------------|----------------|---------------|--------------|---------------|--------------|-------------|-------------|
| Santuario       |                    |                |               |              |               |              |             |             |
| promedio (d.e.) | 47190.67 (5728.27) | 160.67 (31.59) | 52.02 (3.95)  | 19.27 (2.44) | 14.18 (1.05)  | 6.79 (1.51)  | 0.10 (0.03) | 0.07 (0.01) |
| n° de muestras  | 6.00               | 6.00           | 6.00          | 6.00         | 6.00          | 6.00         | 3.00        | 6.00        |
| Río Calle-Calle |                    |                |               |              |               |              |             |             |
| promedio (d.e.) | 29100.00 (2181.74) | 39.05 (20.98)  | 22.10 (9.68)  | 13.84 (6.30) | 21.38 (10.34) | 4.06 (2.70)  | 0.95 (0.84) | 0.36 (0.39) |
| n° de muestras  | 4                  | 14             | 14            | 14           | 14            | 14           | 3           | 9           |
| Río Cau-Cau     |                    |                |               |              |               |              |             |             |
| promedio (d.e.) | sin datos          | 29.58 (8.64)   | 14.63 (2.26)  | 10.54 (2.42) | 7.27 (2.21)   | 8.78 (11.96) | 0.95 (0.50) | 0.18 (0.19) |
| n° de muestras  | 0                  | 4              | 4             | 4            | 4             | 4            | 4           | 4           |
| Río Valdivia 1  |                    |                |               |              |               |              |             |             |
| promedio (d.e.) | 26300.00           | 46.51 (29.39)  | 27.28 (13.94) | 12.52 (4.53) | 29.57 (22.41) | 7.05 (4.75)  | 0.72 (0.61) | 0.33 (0.42) |
| n° de muestras  | 1                  | 9              | 9             | 9            | 9             | 9            | 5           | 7           |
| Río Valdivia 2  |                    |                |               |              |               |              |             |             |
| promedio (d.e.) | 34600.00           | 32.59 (21.75)  | 23.13 (7.92)  | 14.20 (7.43) | 34.74 (17.00) | 4.74 (2.47)  | 0.60 (0.81) | 0.33 (0.40) |
| n° de muestras  | 1                  | 13             | 13            | 13           | 13            | 13           | 5           | 10          |
| Bahía de Corral |                    |                |               |              |               |              |             |             |
| promedio (d.e.) | 29300.00           | 21.81 (19.87)  | 14.62 (8.83)  | 10.99 (6.78) | 26.64 (16.91) | 3.83 (3.36)  | 0.56 (0.69) | 0.38 (0.42) |
| n° de muestras  | 1                  | 10             | 10            | 10           | 10            | 10           | 5           | 9           |

### 7.3.2.3. Nutrientes, cationes y aniones

Los porcentajes de Carbono y Nitrógeno total presentaron valores inferiores al 10 y 1 %, respectivamente (Tabla 27); a su vez, las concentraciones de Fósforo no superaron en general los 2000.00 mg / kg. En los sedimentos de las estaciones ubicadas aguas arriba del Santuario, las concentraciones de Carbono, Nitrógeno y Fósforo fueron notoriamente más altas en el sector Ciruelos. En los sectores de Ciruelos y Rucaco, el porcentaje promedio de Carbono fue de 8.40 y 0.30%, el de Nitrógeno de 0.59 y 0.07 y la concentración promedio de Fósforo de 1164.00 y 284.00 mg / kg, en los sectores de Ciruelos y Rucaco, respectivamente (Tabla 27). En los sedimentos de los sitios Fuerte San Luis, San Martín y Santa María, esos elementos presentaron en general una menor variabilidad que la mencionada para los sedimentos de las estaciones ubicadas aguas arriba del Santuario. El porcentaje promedio de Carbono varió entre 7.00 y 9.55%, el de Nitrógeno entre 0.63 y 0.87% y la concentración promedio de Fósforo entre 1573.00 y 1929.00 mg / kg (Tabla 27).

En los sedimentos recolectados aguas arriba del Santuario (i.e. sectores Ciruelos y Rucaco), las concentraciones de Potasio y Calcio fueron levemente inferiores en el sector Rucaco. Las concentraciones de Potasio y Calcio fueron de 479.00 y 730.50 mg / kg y de 2831.50 y 3444.00 mg / kg en los sedimentos del sector Rucaco y Ciruelos, respectivamente (Tabla 27). En los sedimentos recolectados en los sectores Fuerte San Luis, San Martín y Santa María, el Potasio y el Calcio no presentaron mayores variaciones. La concentración de Potasio varió entre 798.50 y 972.00 mg / kg (sedimentos cercanos al Fuerte San Luis y Santa María, respectivamente), mientras que la concentración de Calcio varió entre 3456.50 y 3756.00 mg / kg (sedimentos de los sectores cercanos a Santa María y a San Martín) (Tabla 27). Las concentraciones promedio de Sodio en los sedimentos del sector Ciruelos y Rucaco fueron de 345.50 y 447.00 mg / kg, respectivamente. La concentración de Boro en Ciruelos fue de 379.00 mg / kg y de 240.50 mg / kg en Rucaco (Tabla 27). En los sedimentos recolectados en el comienzo y al interior del Santuario, la concentración de Sodio varió entre 342.00 (sedimentos cercanos al Fuerte San Luis) y 418.00 mg / kg (sedimentos cercanos a Santa María), mientras que la concentración de Boro varió entre 471.50 y 582.50 mg / kg (sedimentos cercanos al sector San Martín y Santa María, respectivamente) (Tabla 27).

#### **7.3.2.4. Compuestos Orgánicos**

En ninguna de las muestras de las cinco estaciones muestreadas se detectaron compuestos organofosforados, organoclorados, compuestos fenólicos y fenólicos halogenados. En esos sedimentos se detectaron Compuestos AOX y TPH-Diesel en distintas concentraciones. Las concentraciones de AOX en los sedimentos del río Cruces sector Ciruelos fueron relativamente bajas (valor promedio de 10.85  $\mu\text{g}$  / kg, siendo el límite de detección del método utilizado 10  $\mu\text{g}$  / kg aproximadamente). En contraste, en los sedimentos del sector de Rucaco, este compuesto se presentó en concentraciones relativamente altas (232.50  $\mu\text{g}$  / kg). A su vez, en las estaciones al comienzo y dentro del Santuario la concentración de

AOX tendió a disminuir hacia el sur; i.e. San Luis (89.00 µg / kg), San Martín (50.00 µg / kg) y Santa María (26.50 µg / kg) (Tabla 27).

Las concentraciones promedio de TPH-Diesel en los sedimentos de las estaciones del río Cruces, cercanas a los sectores de Ciruelos y Rucaco fue de 269.57 y 35.85 µg / kg. En los sedimentos de las estaciones ubicadas al inicio y dentro del Santuario, esa concentración varió entre 308.95 y 582.50 µg / kg, en el sector cercano a Santa María y San Martín (Tabla 27).

Tabla 27. Características texturales y químicas de los sedimentos de sitios ubicados aguas arriba del Santuario (río Cruces, sectores Ciruelos y Rucaco) y dentro del mismo (sectores Fuerte San Luis, San Martín y Santa María).

| características                       | Río Cruces<br>sector Ciruelos | Río Cruces<br>sector Rucaco | Fuerte San Luis    | San Martín         | Santa María       |
|---------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| <b>Textura</b>                        |                               |                             |                    |                    |                   |
| Fango (%)                             | 26.19 (8.49)                  | 10.21 (0.00)                | 26.44 (1.05)       | 71.83 (0.27)       | 78.04 (1.15)      |
| Arena (%)                             | 68.51 (6.98)                  | 89.64 (0.04)                | 66.15 (0.64)       | 17.05 (0.91)       | 10.93 (0.07)      |
| Grava (%)                             | 5.12 (1.49)                   | 0.11 (0.01)                 | 2.48 (1.48)        | 0.23 (0.14)        | 0.06 (0.01)       |
| Agregados (%)                         | 0.18 (0.01)                   | 0.03 (0.02)                 | 4.93 (1.08)        | 10.89 (0.50)       | 10.97 (1.24)      |
| Materia Orgánica Total (%)            | 11.03 (1.41)                  | 4.60 (0.97)                 | 10.67 (0.36)       | 22.15 (0.70)       | 19.05 (1.85)      |
| <b>Metales pesados</b>                |                               |                             |                    |                    |                   |
| Hierro (mg / kg)                      |                               |                             | 44345.50 (3544.73) | 53755.00 (4631.55) | 43471.50 (118.09) |
| Manganeso (mg / kg)                   |                               |                             | 545.50 (94.05)     | 1817.00 (237.59)   | 1400.50 (36.06)   |
| Zinc (mg / kg)                        |                               |                             | 129.50 (6.36)      | 155.50 (17.68)     | 197.00 (0.00)     |
| Cobre (mg / kg)                       |                               |                             | 56.75 (1.06)       | 48.65 (0.49)       | 50.65 (2.33)      |
| Niquel (mg / kg)                      |                               |                             | 18.40 (4.81)       | 18.90 (0.57)       | 20.50 (1.27)      |
| Cromo (mg / kg)                       |                               |                             | 14.30 (0.99)       | 13.35 (0.35)       | 14.90 (1.41)      |
| Plomo (mg / kg)                       |                               |                             | 7.95 (0.80)        | 7.45 (0.61)        | 4.96 (0.38)       |
| Cadmio (mg / kg)                      |                               |                             | <0.06 y 0.14       | < 0.06             | 0.09 (0.01)       |
| Mercurio (mg / kg)                    |                               |                             | 0.06 (0.00)        | 0.08 (0.02)        | 0.08 (0.00)       |
| <b>Nutrientes, cationes y aniones</b> |                               |                             |                    |                    |                   |
| Carbono Total (%)                     | 8.40 (1.70)                   | 0.30 (0.01)                 | 9.55 (0.07)        | 7.00 (0.99)        | 8.50 (0.28)       |
| Nitrógeno (%)                         | 0.59 (0.02)                   | 0.07 (0.00)                 | 0.87 (0.02)        | 0.63 (0.04)        | 0.71 (0.04)       |
| Fósforo (mg / kg)                     | 1164.00 (22.63)               | 284.00 (26.87)              | 1929.00 (26.87)    | 1573.00 (98.99)    | 1790.50 (45.96)   |
| Potasio (mg / kg)                     | 703.50 (37.48)                | 479.00 (0.00)               | 798.50 (40.31)     | 823.50 (359.92)    | 972.00 (103.24)   |
| Calcio (mg / kg)                      | 3444.00 (494.97)              | 2831.50 (221.32)            | 3509.50 (543.77)   | 3756.00 (424.26)   | 3456.50 (44.55)   |
| Sodio (mg / kg)                       | 345.50 (24.75)                | 447.00 (12.73)              | 342.00 (32.53)     | 406.00 (50.91)     | 418.00 (16.97)    |
| Boro (mg / kg)                        | 379.00 (22.63)                | 240.50 (13.44)              | 582.50 (109.60)    | 471.50 (33.23)     | 474.00 (15.56)    |
| <b>Otros compuestos</b>               |                               |                             |                    |                    |                   |
| AOX (ug / kg)                         | 10.85 (0.49)                  | 232.50 (0.71)               | 89.00 (5.66)       | 50.00 (2.83)       | 26.50 (2.12)      |
| Compuestos organofosforados           | no detectados                 | no detectados               | no detectados      | no detectados      | no detectados     |
| Compuestos fenolicos                  | no detectados                 | no detectados               | no detectados      | no detectados      | no detectados     |
| Compuestos organoclorados             | no detectados                 | no detectados               | no detectados      | no detectados      | no detectados     |
| TPH-Diesel (ug / g)                   | 269.57 (71.74)                | 35.85 (1.73)                | 413.75 (14.21)     | 582.50 (261.77)    | 308.95 (88.60)    |

#### 7.4. Conclusiones

- i) El Hierro y el Manganeseo, fueron los metales pesados que presentaron las concentraciones más altas en sedimentos recolectados en las estaciones dentro del Santuario y fuera del mismo.
- ii) Las concentraciones promedio de Hierro y Manganeseo en los sedimentos del Santuario (42196.57 y 1170.70 mg / kg, respectivamente), fueron significativamente mayores que las de los sedimentos de los ríos Calle-Calle y Valdivia (28916.67 mg / kg para el Hierro y 325.67 mg / kg para el Manganeseo).
- iii) Las concentraciones de Hierro, Zinc y Cobre, en los sedimentos del Santuario fueron mayores a las detectadas en estudios anteriores en los sedimentos de los ríos Calle-Calle, Valdivia, Cau-Cau y Bahía de Corral.
- iv) Las concentraciones de AOX en los sedimentos fueron más altas en el sector Rucaco, a partir del cual disminuyen hacia el interior del Santuario.
- v) Se detectaron trazas de ftalatos,  $\alpha$ -pineno y  $\alpha$ -cubebeno y un compuesto asignado a tributil fosfato (TBF) en los sedimentos del Santuario.



## 9. Participantes en las actividades a las que se hace referencia en este Informe

- **Instituto de Zoología (Facultad de Ciencias)**

Dr. Eduardo Jaramillo, Ecólogo Acuático, Coordinador General del Estudio  
Biol. Marino Heraldo Contreras, análisis de datos  
Biol. Marino. Cristian Duarte, revisión bibliográfica

- **Instituto de Botánica (Facultad de Ciencias)**

Dr. Carlos Ramírez, Botánico

- **Instituto de Geociencias (Facultad de Ciencias)**

Dr. Sandor Mulsow, Geoquímico

- **Instituto de Química (Facultad de Ciencias)**

Dr. Eduardo Quiroz, Químico.  
MSc. Hernán Palma, Químico.

- **Instituto de Histología (Facultad de Medicina)**

Dr. Bruno Peruzzo, microscopía electrónica  
Ing. Elect. Ricardo Silva, microscopía electrónica

- **Instituto de Patología Animal (Facultad de Ciencias Veterinarias)**

Dr. Jorge Ulloa, Veterinario (Patología aviar)  
Dr. Enrique Paredes, Veterinario (Histopatología)  
Dr. Gastón Valenzuela, Veterinario (Parasitología)

- **Colaborador externo**

Isabel Mayorga, Periodista

