



Universidad de Concepción



FACULTAD DE CIENCIAS
AMBIENTALES

**Evaluación del potencial reúso de aguas servidas en la
agricultura, tratadas mediante lodos activados y
humedales construidos bajo diferentes procesos de
desinfección**



Habilitación presentada para optar al título de

Ingeniero Ambiental

ADRIAN ERNESTO ALBARRAN TOLEDO

CONCEPCIÓN (CHILE), 2017



Universidad de Concepción



FACULTAD DE CIENCIAS
AMBIENTALES

Evaluación del potencial reúso de aguas servidas en la agricultura, tratadas mediante lodos activados y humedales construidos bajo diferentes procesos de desinfección



Habilitación presentada para optar al título de

Ingeniero Ambiental

Alumno: Adrián Ernesto Albarrán Toledo

Profesora Guía: Dra. Gladys Cecilia Vidal Sáez

Profesor Co-Guía: Dra. Daniela López Leyton

CONCEPCIÓN (CHILE), 2017



A mis padres, a mi hermana, a mi familia y amigos.



2017

GRUPO DE INGENIERIA Y BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL (GIBA)

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES EULA – CHILE

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

NOMENCLATURA

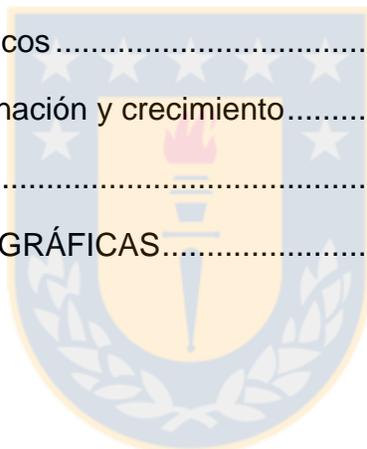
ADN	Acido desoxirribonucleico	
ARN	Ácido ribonucleico	
CF	Coliformes fecales	(NMP/100 mL)
Cl	Cloro	
CxT	Concentración por tiempo de contacto	(mg·min/L)
DBO ₅	Demanda Biológica de Oxígeno	(mg/L)
DQO	Demanda Química de Oxígeno	(mg/L)
HFS	Humedal de Flujo Superficial	
HFSSH	Humedal de Flujo Subsuperficial Horizontal	
HFSSV	Humedal de Flujo Subsuperficial Vertical	
IG	Índice de Germinación	(%)
LA	Lodos Activados	
NaOCl	Hipoclorito de Sodio	(mg/L)
N-NH ₄ ⁺	Amonio medido como Nitrógeno	(mg/L)
N-NO ₂	Nitrito medido como Nitrógeno	(mg/L)
N-NO ₃ ⁻	Nitrato medido como Nitrógeno	(mg/L)
NT	Nitrógeno Total	(mg/L)
NTK	Nitrógeno Total Kjeldhal	(mg/L)
OD	Oxígeno Disuelto	(mg/L)
PTAS	Planta de Tratamiento de Aguas Servidas	
PT	Fósforo Total	(mg/L)
P-PO ₄	Fosfato medido como fósforo	(mg/L)
SST	Solidos Suspendidos Totales	(mg/L)
SSV	Solidos Suspendidos Volátiles	(mg/L)
TRH	Tiempo de Retención Hidráulico	(d)
UV	Ultravioleta	

ÍNDICE

NOMENCLATURA	I
ÍNDICE	II
INDICE DE TABLAS	V
INDICE DE FIGURAS	VI
AGRADECIMIENTOS	IX
RESUMEN	XII
1. INTRODUCCION	14
1.1 Problemática asociada a las aguas servidas rurales	14
1.1.1 Situación sanitaria en Chile para el sector rural.....	15
1.2 Aguas Servidas.....	16
1.2.1 Características de las aguas servidas	16
1.3 Sistemas de Tratamiento de las aguas servidas.....	19
1.3.1 Tratamientos convencionales y no convencionales de aguas servidas	20
1.4 Humedales Construidos.....	25
1.4.1 Tipos de humedales construidos	26
1.5 Desinfección	28
1.5.1 Cloro	29
1.5.2 Luz ultravioleta.....	30
1.6 Reúso	31
1.6.1 Aplicaciones de agua reutilizada	33
1.6.2 Ejemplos de reúso	37
1.7 Efectos del riego en el suelo y las plantas	38
1.7.1 Interacción de los nutrientes entre suelo y planta.....	41

1.7.2	Nutrientes esenciales para las plantas y su influencia en el desarrollo	43
1.8	Bioensayos de toxicidad	47
1.8.1	Bioensayo de germinación.....	48
2	HIPÓTESIS.....	55
3	OBJETIVOS.....	55
3.1.	General:.....	55
3.2.	Específicos:.....	55
4.	METODOLOGIA	56
4.1.	Proceso de tratamiento de agua.....	56
4.1.1.	Obtención del influente	56
4.1.2.	Unidades de tratamiento.....	57
4.2.	Proceso de desinfección.....	58
4.2.1.	Desinfección mediante el uso de Cloro.....	58
4.2.2.	Desinfección mediante el uso de UV	59
4.3.	Bioensayos de toxicidad	59
4.3.1.	Bioensayos en placas.....	59
4.3.2.	Bioensayos en suelo.....	60
4.4.	Metodología para el análisis de datos.....	61
4.5.	Métodos analíticos	62
4.5.1.	Parámetros fisicoquímicos.....	62
4.5.2.	Patógenos.....	63
5.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	65
5.1.	Caracterización de la calidad fisicoquímica y microbiológica de las aguas servidas rurales tratadas mediante LA y HFSSH sometidas a procesos de desinfección.	65

5.1.1. Comparación de la caracterización de efluentes HFSSH y LA, respecto a la bibliografía relacionada al reúso de aguas servidas tratadas.....	72
5.2. Evaluación de la respuesta diferencial en bioindicadores de toxicidad irrigados en placas proveniente de LA y HFSSH, sometida a procesos de desinfección.	75
5.2.1. Parámetros morfológicos.....	75
5.2.2. Indicadores de germinación y crecimiento.....	84
5.3. Evaluación de la respuesta diferencial de bioindicadores de toxicidad irrigados en suelo proveniente de LA y HFSSH, sometida a procesos de desinfección.	90
5.3.1. Parámetros morfológicos.....	90
5.3.2. Indicadores de germinación y crecimiento.....	98
6. CONCLUSIONES.....	107
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentraciones típicas encontradas en aguas servidas.	18
Tabla 2. Características de tecnologías de tratamiento aeróbico	23
Tabla 3. Guías sugeridas para uso de aguas tratadas en el reúso agrícola	35
Tabla 4. Nutrientes esenciales de las plantas, formas de absorción y concentración típica.	44
Tabla 5. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del efluente de HFSSH sometido a cloración e irradiación UV.	65
Tabla 6. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del efluente de tratamiento con lodos activados sometido a cloración e irradiación UV.....	68
Tabla 7. Características de la calidad del agua para diferentes opciones de reúso en riego agrícola.....	72
Tabla 8. Características de calidad de agua para uso en riego agrícola	74



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del intercambio catiónico en la solución de suelo	39
Figura 2. Intercambio iónico entre el coloide de suelo y la raíz.	42
Figura 3. Esquema de elementos que componen la planta.	50
Figura 4. Ubicación de la planta piloto de HFSSH en la PTAS de Hualqui	56
Figura 5. Sistema de desinfección con cloro (Acevedo, 2015).....	58
Figura 6. Sistema de desinfección con luz ultravioleta (Acevedo, 2015).....	59
Figura 7. Semillas de a) <i>Raphanus sativus</i> y b) <i>Triticum aestivum</i>	60
Figura 8. Crecimiento del epicotilo para <i>Raphanus Sativus</i> irrigado en placas con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.....	76
Figura 9. Crecimiento de la raíz para <i>Raphanus Sativus</i> irrigado en placas con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl	78
Figura 10. Crecimiento del epicotilo para <i>Triticum aestivum</i> irrigado en placas con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.....	80
Figura 11. Crecimiento de la raíz para <i>Triticum aestivum</i> , irrigado en placas con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.	82
Figura 12. Porcentajes de elongación de Epicotilo-PEE (figuras izquierda) e inhibición de la germinación-PIG (figuras derecha) de <i>Raphanus sativus</i> para el bioensayo en placas. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.....	84
Figura 13. Porcentajes de elongación de Epicotilo-PEE (figuras izquierda) e inhibición de la germinación-PIG (figuras derecha) de <i>Triticum aestivum</i> para el bioensayo en placas. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.....	86

Figura 14. Indicadores de germinación de <i>Raphanus sativus</i> para el bioensayo en placas. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.....	88
Figura 15. Indicadores de germinación de <i>Triticum aestivum</i> para el bioensayo en placas. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.....	89
Figura 16. Crecimiento del epicotilo para <i>Raphanus Sativus</i> irrigado en suelo con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.....	91
Figura 17. Crecimiento de la raíz para <i>Raphanus Sativus</i> irrigado en suelo con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.	93
Figura 18. Crecimiento del epicotilo para <i>Triticum aestivum</i> irrigado en suelo con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.....	95
Figura 19. Crecimiento de la raíz para <i>Triticum aestivum</i> , irrigado en suelo con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.	97
Figura 20. Porcentajes de elongación de Epicotilo-PEE (figuras izquierda) e inhibición de la germinación-PIG (figuras derecha) de <i>Raphanus sativus</i> para el bioensayo en suelo. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.	99
Figura 21. Porcentajes de elongación de Epicotilo-PEE (figuras izquierda) e inhibición de la germinación-PIG (figuras derecha) de <i>Triticum aestivum</i> para el bioensayo en suelo. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.	101
Figura 22. Indicadores de germinación de <i>Raphanus sativus</i> para el bioensayo en suelo. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.....	103

Figura 23. Indicadores de germinación de *Triticum* para el bioensayo en suelo. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.

..... 105



AGRADECIMIENTOS

En este espacio quisiera hacer mención a todas las personas que me ayudaron a llegar hasta aquí. En primer lugar, quisiera agradecer a mis padres, pues sin su apoyo irrestricto yo no hubiera podido lograr nada de lo que alcanzado. Cada uno me entrego siempre, en su propio estilo, la palabra exacta para salvar las barreras de esta etapa que termina. A mi madre, Francis, que desde su mirada cósmica de las cosas me entrego la fuerza necesaria para seguir, y a mi padre, John, pues con sus opiniones siempre pragmáticas me contuvo y me aterrizo. La combinación de estas dos visiones me empujo y me mostro que no hay muralla insalvable ni cumbre inalcanzable.

Quisiera mostrar también mi gratitud con mi hermana María Margarita, quien desde su experiencia siempre apporto para ayudarme a ver que los problemas no eran tan grandes y que esta es solo una etapa más de la vida. Te agradezco por siempre apoyarme a pesar de que a veces te dejo botada y dejarme abrazarte aunque no te gusta que te abracen.

Quisiera agradecer a mi familia pues han sido un baluarte para mí, desde mi llegada a concepción en 2010. Aunque esa primera experiencia fue fallida, jamás me permitieron caer en la desgracia sino que por el contrario, me mantuvieron en lo más alto. A mis abuelos, Waldo y María de las Nieves, mi tata y mi weli, quienes siempre me recibieron con los brazos abiertos aun cuando la vida universitaria no me permitió estar tan cerca de ellos como hubiese querido. A mis tíos, porque con su ejemplo siempre supe que hay que luchar para conseguir el éxito y salir adelante aunque cueste. A mis primos, por acogerme cuando llegue a la “gran ciudad” y hacerme sentir como un penquista más.

Quisiera agradecer también a la familia que no se elije, pues que sería de uno sin sus compañeros y amigos. A cada uno de ustedes, gracias por su apoyo, sobre todo en esta última etapa. No se imaginan cuán importante fue para mí cada “dale adri”, “animo ladri”, etc. Quisiera tomarme un momento para saludar a los tres

mosqueteros. Pancho, Nicoflin y Marito, a lo largo de estos 5 años han sido muchas veces mis hermanos mayores y otras veces mis hermanos menores, pues con cada cosa que vivimos crecimos y nos hicimos mejores. Cada uno de ustedes representa un aspecto de mi propia personalidad. Ustedes han dejado una huella en mí y espero también haber dejado una huella en ustedes.

También quisiera agradecer de manera especial a Daniela Segura. Entraste en mi vida no hace mucho (14 meses y 16 días, cuando escribí esto), pero en ese tiempo has hecho de mí una mejor persona. Me has mostrado la fuerza donde yo no sabía que había y el temple para seguir adelante. Has sido mi compañera y mi cómplice y muchas veces mi sanadora. Incontables fueron las situaciones en que con solo un abrazo me reconstruiste y me pusiste de nuevo en la lucha. Jamás voy a dejar de estar agradecido y por supuesto jamás dejare de decírtelo.

Mis agradecimientos también van para mi profesor guía, la doctora Gladys Vidal, quien encauso mis aspiraciones de trabajo en una nueva dirección no considerada por mí, juntando la química y la biología, dos ramas de la ciencia rehuidas por mí, para lograr el resultado final materializado en esta Habilitación Profesional. Cada reunión con usted género en mí un nuevo aprendizaje y la motivación para no claudicar en la consecución del fin último, lograr ser un Ingeniero Ambiental.

Quisiera agradecer a mi profesor co-guía, la doctora Daniela López, con quien si bien no lográbamos hablar el mismo idioma en un principio, jamás dejo de apoyarme en todas las formas posibles, con material, con conocimiento o con un “arriba el ánimo, queda poco”. Hemos tenido nuestros altos y bajos, particularmente porque soy un poco desordenado, pero siempre vi en ella el camino para seguir avanzando en este proceso.

Quisiera agradecer al Grupo GIBA, por el apoyo logístico y técnico pero también por la simpatía que siempre los caracterizo. Mención especial para Gloria y María José, pues sin ustedes mi paso por el laboratorio habría sido un desastre. Siempre dispuestas a resolver mis dudas con humor aunque estas fueran reiterativas.

Mención especial merece la gente del laboratorio de bioensayos de nuestra casa de estudios. Agradezco a los profesores Enrique y Jeannette, por su apoyo intelectual y logístico. Sin su buena disposición la parte práctica de esta Habilitación Profesional no hubiera sido posible.

Quisiera agradecer a los funcionarios y el cuerpo docente de nuestra facultad. Siempre con la disposición de ayudar y siempre con las puertas abiertas para todos en el horario que fuere el día que fuere.

A todos ustedes, mencionados de manera directa o implícita, les expreso mi más sincera gratitud.

MUCHISIMAS GRACIAS A TODOS

Adrián Albarrán Toledo.



RESUMEN

El agua es un elemento trascendental para el desarrollo de la vida. Por este motivo y ante la reducción en la disponibilidad del recurso es que algunas comunidades, han optado por el reúso como solución a la problemática. El reúso en las actividades agrícolas, es una alternativa para ampliar las fuentes de agua dulce para el riego con el consiguiente aprovechamiento de los nutrientes presentes en estas aguas.

A nivel de comunidades existen distintas tecnologías aplicadas al tratamiento de las aguas servidas, algunas de estas son de tipo convencional, como por ejemplo las que utilizan lodos activados; o bien de tipo no convencional, como las plantas con tratamiento con humedales construidos. Las tecnologías no convencionales han tomado fuerza como una opción para comunidades de población reducida debido a sus bajos costos operacionales y los bajos requerimientos en cuanto a conocimientos técnicos para su operación y mantención. Además, estas plantas deben considerar sistemas de eliminación de patógenos. Con este fin es que se han aplicado mecanismos de eliminación por cloro e irradiación UV.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de bioindicadores vegetales a la aplicación de efluentes provenientes de sistemas de tratamiento de aguas servidas convencionales (Lodos activados con Aireación Extendida) y no convencionales (Humedales de Flujo Subsuperficial Horizontal) sometidos a distintos procesos de desinfección (Cloración e irradiación UV), con la finalidad de evaluar el potencial reúso de dichos efluentes en la agricultura.

Se evaluó el comportamiento de semillas de las especies *Raphanus sativus* (Rabanito) y *Triticum aestivum* (Trigo) a dos tipos de bioensayos. El primero consistió en la germinación en placas de dichas semillas para evaluar la respuesta a la exposición aguda (6 días). Mientras que un segundo bioensayo consistió en la germinación en suelo de dichas semillas mediante una mezcla de arena, turba y

caolín (7:1:2) para replicar las condiciones de suelo, obteniendo así una respuesta crónica (14 días).

Para el bioensayo en placas se obtuvo que la especie *Raphanus sativus* fue estimulada en la elongación del epicotilo entre un 36-59% en los distintos efluentes, mientras que el índice de germinación (IG) demostró un aumento (50-90% para LA y HFSSH, respectivamente) para los efluentes desinfectados por irradiación UV. Por su parte, en el bioensayo en suelo se produjo una variación en la elongación de la raíz (24% de reducción en *Raphanus sativus* y 13% de aumento en *Triticum aestivum*) y la germinación (reducción de 24 - 32 % para *R. sativus* y *T. aestivum*, respectivamente). Sin embargo mantuvieron las tendencias observadas en el bioensayo en placas, solo existiendo una variación del IG (35% de disminución bajo efluente LA y 22% de aumento en el efluente HFSSH) de la especie *Triticum aestivum*.

Los efluentes que mostraron un mejor desempeño en la comparación con la normativa seleccionada (U.S.EPA, 2012 y NCh 1333, 1987) fueron los efluentes LA-UV y HFSSH-UV, sin embargo las mayores elongaciones de epicotilo (16 - 57%) e índices de germinación se presentaron en las semillas irrigadas con la muestra HFSSH-UV.

1. INTRODUCCION

1.1 Problemática asociada a las aguas servidas rurales

El agua es un elemento trascendental para el desarrollo de la vida. Por esta razón los pueblos a lo largo de la historia han desarrollado su cultura cerca de fuentes de agua dulce. Esto ha convertido el acceso a este bien en un derecho humano fundamental en muchas culturas y naciones (Neuenschwander, 2010).

Si bien el 70% de nuestro planeta está cubierto de agua, este recurso no se encuentra distribuido uniformemente a lo ancho del globo terráqueo, aún más, solo una pequeña parte de este porcentaje es agua dulce (3%). De este porcentaje, más del 60% forma parte los glaciares y los polos, mientras que solo un 10% está disponible en los ecosistemas. En cuanto a este porcentaje un 99% corresponde a aguas subterráneas, mientras que el 1% restante a aguas superficiales.

Más aun, el agua está sometida a un uso intensivo por las distintas actividades que desarrollan las sociedades modernas. Según la UNESCO (2003) el 69% del agua dulce disponible en el planeta se destina a la agricultura, el 23% a la industria y el 8% al consumo doméstico. Es probable que la producción agrícola mundial aumente en los próximos años para satisfacer las necesidades de una población mundial en expansión (Tilman *et al.*, 2001). En Chile, dichas cifras son algo similares, pues más del 70% del agua es utilizada por la agricultura mientras que la minería y la industria, comparten casi un 20% del uso del recurso. El uso doméstico se reduce a mucho menos del 10% (Neuenschwander, 2010).

El consumo en el sector agrícola hace que el recurso hídrico sea muy importante para las sociedades, sobre todo en zonas rurales, las cuales se dedican de forma casi integra a la agricultura. Esto hace que el aprovechamiento eficiente del recurso hídrico sea muy importante la vida en sectores rurales.

Por otra parte, se ha evidenciado que el calentamiento global ha tenido grandes efectos en los distintos ambientes, siendo el recurso hídrico uno de los más

afectados. Aunque las previsiones de cambio climático son variables, generalmente coinciden en que se modificarán los patrones de lluvia y nevadas, lo que probablemente afecte al sistema de asignación de agua en muchas zonas (Mosse *et al.*, 2010). Se ha demostrado que al aumentar la temperatura del planeta también aumenta la evapotranspiración, salinizando los suelos e impidiendo el crecimiento de la vegetación generando problemas de desertificación (Tilman *et al.*, 2001). Estos procesos de cambio en las condiciones del entorno solo aumentan las presiones sobre el sector agrícola con una alta demanda de recurso y una decreciente disponibilidad del mismo.

La realidad plantea entonces una serie de búsquedas para lograr mejorar las condiciones de utilización de recurso hídrico en zonas rurales. Estas están asociadas a la determinación de las condiciones del agua, formas de tratar el agua y como esta agua tratada puede ser de utilidad para procesos productivos de distinta índole en especial la actividad agrícola.

1.1.1 Situación sanitaria en Chile para el sector rural

Una localidad rural es aquella que posee entre 1000 y 2000 habitantes con menos de un 50% de su población económicamente activa dedicada a actividades secundarias y/o terciarias (INE, 2012). Por su parte, la agencia de protección ambiental de Estados Unidos (US-EPA) define como asentamientos rurales a los que tengan una producción de aguas servidas inferior a 3800 m³/día (U.S.EPA, 2000).

En nuestro país la cobertura de agua potable y alcantarillado es de un 99,9% y un 96,7% respectivamente para zonas urbanas (SISS, 2015). Para el caso de las localidades rurales, estas reciben el abastecimiento por parte de cooperativas y comités de agua potable rural, los que mayoritariamente se agrupan bajo el Programa de Agua Potable del Ministerio de Obras Públicas. Actualmente, existen más de 1.600 servicios de agua potable rural equivalentes a aproximadamente más 2.120.000 habitantes (SISS, 2015). De hecho, el servicio de tratamiento de

aguas servidas en sectores rurales alcanza el número de 550 plantas operativas a lo largo de todo el país (SUBDERE, 2012) equivalente, según estimaciones, a un 11,13% de las localidades. De estas el 66% posee un buen funcionamiento mientras que el resto tiene un funcionamiento regular (21,27%) y malo (18,73%) según datos de la SUBDERE en 2012. Dentro de este universo de plantas se encuentran diversas metodologías de tratamiento de aguas teniendo mayor presencia el tratamiento de lodos activados (72%) y las fosas sépticas (9%). Si bien se aplican sistemas no convencionales como los lombrifiltros (7%), estos se encuentran mal ejecutados o bien con la necesidad de ser reparados (SUBDERE, 2012).

1.2 Aguas Servidas

Las aguas servidas corresponden a la combinación de descargas domésticas, industriales y de aguas lluvias (von Sperling, 2007), que se han utilizado por una comunidad y que contiene todos los materiales añadidos al agua durante su uso (Metcalf y Eddy, 2003). La calidad y cantidad de las aguas residuales domésticas depende de muchos factores, entre ellos, la densidad demográfica, el desarrollo tecnológico y las condiciones de salud de la colectividad por lo que valores de concentración y contribuciones per cápita varían de un lugar a otro (Romero, 2004). Las aguas servidas rurales, se componen en su mayoría, de los desechos humanos (heces y orina), junto con el agua utilizada para inodoros y el agua resultante de aseo personal, preparación de alimentos, lavado de ropa y limpieza utensilios caseros (Mara, 2004). La tasa de generación diaria de residuos líquidos domésticos está en el rango 139,1 L/hab·d (Vidal *et al.*, 2014).

1.2.1 Características de las aguas servidas

En su conjunto, las aguas servidas se componen de un 99% de agua y un 1% de sólidos suspendidos, coloidales y disueltos. Por lo general, son una mezcla de compleja de compuestos, tanto orgánicos como inorgánicos (López, 2016) que

pueden describirse según sus características físicas, químicas y biológicas. En la Tabla 1 se observan las principales características de las aguas servidas.

Dentro de las características físicas se encuentran los Sólidos Suspendedos Totales (SST), los que se componen de los sólidos suspendidos volátiles (SSV) que corresponden a la fracción orgánica y los sólidos sedimentables (Aproximadamente un 60% de los sólidos totales) (Metcalf y Eddy, 2003). Otro elemento característico es el pH, cuyos rangos comúnmente varían entre 6,5 y 8,5 (Metcalf y Eddy, 2003). A su vez, se sabe que los procesos biológicos oxidativos que ocurren en las aguas servidas tienden a alcalinizar el medio (Sperling, 2007).

En cuanto a las características químicas podemos mencionar que la MO se encuentra principalmente en forma disuelta y particulada, tanto como en efluentes primarios como en aguas servidas crudas (Caselles-Osorio *et al.*, 2007). La MO proveniente en las aguas servidas contiene una fracción biodegradable y otra no biodegradable (recalcitrante) (Metcalf y Eddie, 2003). Su concentración estará dada por la demanda biológica de oxígeno (DBO_5) y la DQO.

Por otra parte, el nitrógeno total (NT) generalmente se encuentra comprendido en un 50% como amonio ($N-NH_4^+$), entre un 0,75 y 3% como nitritos y nitratos ($N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$), lo que en su conjunto se conoce como nitrógeno inorgánico y el restante como nitrógeno orgánico ($R-NH_4^+$) (Henze *et al.*, 2002). En aguas servidas sin tratamiento se ha determinado que se generan 12 gN/ (hab·d) y entre 3-7 kgN/ (hab·año). Por su parte, el fósforo total (PT) se puede encontrar en diversas formas, siendo el ortofosfato (PO_4^{3-}) el utilizado por los organismos como nutriente, y por ende, el más considerado al momento de caracterizar las aguas servidas (Metcalf y Eddy. 2003). Además de ser la forma de fósforo más abundante (~71 % del PT) (Henze, *et al.*, 2002). El fósforo también se encuentra en su forma inorgánica, cuyos valores aumentan en aproximadamente un 40 % debido a la alta utilización de productos de limpieza y otros químicos de uso doméstico (Von Sperling, 2007; Henze *et al.*, 2002).

Por otro lado, las características biológicas de las aguas servidas son de gran importancia, ya que se asocian principalmente a la presencia de microorganismos que pueden causar enfermedades a humanos y animales (Oakley, 2005). Las bacterias presentes en aguas servidas, corresponden a bacterias entéricas. Para analizar su presencia en aguas servidas, se utilizan los indicadores coliformes (Acevedo, 2015). Los coliformes son un grupo de bacterias que se encuentran presentes en el suelo, plantas, humanos y animales (Metcalf y Eddy, 1995).

Tabla 1. Concentraciones típicas encontradas en aguas servidas.

Parámetro	Unidad	Promedio	Rango
pH	-	7	6.5-8.5
Demanda química de oxígeno (DQO)	mg/l	530	320-740
Demanda biológica de oxígeno a los cinco días (DBO ₅)	mg/l	250	150-350
Sólidos suspendidos totales (SST)	mg/l	300	120-450
Nitrógeno total (NT)	mg/l	60	20-120
Amonio (N-NH ₄ ⁺)	mg/l	30	12-100
Nitrito (N-NO ₂)	mg/l	0,1	0,1
Nitrato (N-NO ₃ ⁻)	mg/l	0,5	0,5
Nitrógeno Total Kjeldhal	mg/l	50	30-80
Fósforo total (PT)	mg/l	14	2.0-23
Fosfato (PO ₄)	mg/l	7	3.0-15
Fosfato orgánico	mg/l	3	2-4
Coliformes fecales (CF)	NMP/100 ml	1 x 10 ⁶	1 x 10 ³ -2 x 10 ⁸

Adaptado de Vera *et al.*, (2016).

Estos, son útiles para determinar la calidad del agua potable, y en plantas de tratamiento de agua, los coliformes totales son uno de los mejores indicadores de la eficiencia de tratamiento (Bitton, 2005). Dentro de estos se encuentran los coliformes fecales los cuales comprenden a las bacterias capaces de fermentar lactosa a 44,5°C y cuya presencia es indicador de contacto con materia fecal

proveniente de animales de sangre caliente. Su concentración en aguas servidas es bastante alta (Tabla 1), sobre todo si se la compara con las concentraciones fijadas por distintas organizaciones, tanto para descarga a cuerpos de agua como para reusó.

1.3 Sistemas de Tratamiento de las aguas servidas

Los sistemas de tratamiento de las aguas servidas a menudo suelen dividirse en etapas. Estas son: a) recolección, que para el caso de los asentamientos urbanos es realizada por el alcantarillado; b) el tratamiento, el cual se realiza en una instalación física que se conoce como planta de tratamiento en la que se realiza la remoción de los compuestos del agua servida; y finalmente c) evacuación, en la cual el agua servida tratada es restituida al ciclo hidrológico (Vera *et al.*, 2016).

El tratamiento de las aguas servidas se compone de un tratamiento preliminar, encargado de los sólidos en suspensión por medio de filtros. Esta primera etapa de tratamiento tiene por finalidad remover todas aquellas sustancias que pudieran dañar o deteriorar los sistemas de los equipos de tratamiento que las preceden. Las unidades empleadas son principalmente de desbaste, el desarenado y el desengrasado (Vera, 2012). Posteriormente, el tratamiento primario, encargado de la retención de los sólidos sedimentables (arenas) y la DBO₅ suspendida asociada a los sólidos en suspensión sedimentables mediante sedimentación por gravedad. Esto se logra mediante un clarificador primario (tratamiento urbano y rural) con eficiencias de eliminación que pueden alcanzar un 70% para SST y un 35% de la DBO₅. Luego el tratamiento secundario, encargado de la DBO₅ suspendida asociada a la materia orgánica presente en el agua o la no eliminada en la fase anterior y la DBO₅ soluble asociada a la materia orgánica en sólidos disueltos, lo que se logra mediante procesos que aprovechan la actividad biológica, para transformarla a gases y biomasa (Vera, 2012). Finalmente el tratamiento terciario encargado de los nutrientes, compuestos patógenos, compuestos no biodegradables, metales, sólidos inorgánicos disueltos, y el resto de los

remanentes sólidos en suspensión (von Sperling, 2007). Dentro de las tecnologías asociadas a procesos de desinfección podemos encontrar la oxidación con cloro, la aplicación de ozono y la aplicación de luz UV.

1.3.1 Tratamientos convencionales y no convencionales de aguas servidas

La finalidad del tratamiento secundario es la eliminación de la MO (Sperling, 2007). Los tratamientos secundarios pueden agruparse en tratamientos convencionales y no convencionales. Tecnologías convencionales, son aquellas que involucran cierto nivel de mecanización y que por lo general se encuentran aplicadas en sistemas centralizados. Estas a su vez se dividen según si el cultivo de biomasa se encuentra suspendido o adherido a un medio de soporte. Por otro lado, los sistemas no convencionales no involucran mecanización pero si requieren para su funcionamiento, considerables superficies de terreno (SISS, 2015). Siendo ambos fisicoquímicos y/o biológicos, los tratamientos convencionales pueden a su vez subdividirse en sistemas aeróbicos y anaeróbicos. Dentro de los sistemas aeróbicos podemos mencionar el sistema de lodos activados, los reactores de flujo discontinuo y las lagunas aireadas mecánicamente. Estos sistemas tienen por función la degradación de la materia orgánica por procesos oxidativos generando intercambio de electrones generando biomasa con subproductos como son el agua y el dióxido de carbono (von Sperling, 2007). Por otro lado, los procesos anaeróbicos degradan la materia orgánica por medio de bacterias cuyo metabolismo requiere la ausencia de oxígeno para su funcionamiento, el cual mediante diversos procesos finalmente genera dióxido de carbono, agua y además de H_2S y NH_4^+ (von Sperling, 2007). Entre estos procesos se destacan las lagunas anaeróbicas y los reactores anaerobios por mencionar algunos de ellos. Así, existen un gran número de tratamientos asociados al manejo de aguas residuales y la selección de estos depende principalmente de las características del cuerpo receptor, el objetivo de tratamiento y la eficiencia de tratamiento y eliminación (von Sperling, 2007).

Los tratamientos no convencionales son procesos que dependen principalmente de sus componentes naturales. Basan la eliminación de DBO_5 , N y P, en componentes del medio natural, sin emplear en el proceso ningún tipo de aditivo químico para lograr el propósito deseado y que a pesar de incluir bombas y tuberías para la conducción y distribución de aguas residuales, no dependen de fuentes externas exclusivamente para mantener las principales respuestas a los tratamientos (Crites, 2006).

1.3.1.1 Tratamientos convencionales

Dentro de los tratamientos convencionales, el más utilizado en el país es el de lodos activados (55% nivel urbano; 72% nivel rural), con un aumento de la cobertura en el periodo 2003- 2011 desde un 28% a un 72% en el sector rural (Rodríguez, 2011). Esta tecnología se sustenta en un proceso de tratamiento de tipo aeróbico con cultivo suspendido en el que la materia orgánica aportada por las aguas servidas es reducida por la acción de bacterias heterótrofas (von Sperling, 2007). En dicho proceso suelen identificarse cuatro secciones: a) un tanque de aireación, b) un tanque de sedimentación (clarificador secundario), c) recirculación de lodo, y d) eliminación del lodo de desecho (purga) (von Sperling, 2007). En el tanque de aireación la materia orgánica del influente se combina con las bacterias formando material celular que conforma flóculos (Metcalf y Eddy, 1995). El sistema de aireación le confiere la agitación necesaria tanto al lodo como al agua además de proveer el oxígeno necesario para la que los procesos degradadores ocurran. Luego de estar el tiempo establecido en el tanque, el agua pasa al tanque de sedimentación donde estos flóculos sedimentan por gravedad separándose del agua tratada, la que sale relativamente clarificada y parcialmente libre de materia orgánica y sólidos (Metcalf y Eddy, 1995). El lodo sedimentado es recirculado, con la finalidad de mantener la concentración de lodos necesaria en el tanque de aireación, o bien es purgado dependiendo de la edad que este tenga.

Los sistemas de lodos activados pueden tener distintas configuraciones (Tabla 2) dentro de las que destacan: I) Aireación convencional, donde son utilizados difusores de aire con tiempo de retención hidráulico TRH de 3-8 horas, con una edad del lodo de 4-15 días, y con eficiencias de eliminación de materia orgánica y nutrientes del orden de 95 %, de DBO_5 , y 25 a 30% N y P, respectivamente ;y II) Aireación extendida, donde el tanque es aireado mecánicamente con TRH de 12-36 horas, con una edad del lodo de 20-60 días, lo que se traduce en una menor generación de lodo, además de poseer eficiencias de eliminación de materia orgánica y nutrientes del orden de 98 , 25 y 20% (DBO_5 , N y P, respectivamente (Vera, 2012).

La eliminación de materia orgánica en los sistemas de lodos activados se da por etapas. Primero, la materia orgánica presente en el agua servida entra en contacto con las estructuras floculares que componen los lodos activados produciéndose un atrapamiento de las partículas. A continuación, se da una eliminación rápida por absorción y almacenamiento celular de compuestos orgánicos solubles de elevado peso molecular. Luego, se produce la adsorción del material coloidal.

Tabla 2. Características de tecnologías de tratamiento aeróbico

Tecnología	Parámetros									
	Diseño			Operaciones			Eficiencia			
	Área Unitaria (m ² /hab)	Carga volumétrica (g DBO ₅ /m ³ -d)	Edad del lodo (d)	TRH (d)	DBO ₅ (%) (mg/L)	N (%) (mg/L)	P (%) (mg/L)			
Lodos Activados Convencional	0,2-0,3	0,3-0,7	4-15	3-8	85-95	10-30	25-30	15-35	25-30	4-10
Lodos Activados Aireación extendida	0,25-0,35	0,1-0,3	20-60	12-36	93-98	<20	15-25	15-35	10-20	4-10

Ramalho (1996), Tsagarakis et al. (2000), Helmreich et al. (2000), Henze et al. (2002), Metcalf and Eddy (2003), Crites et al. (2006), Arceivala and Asolekar (2007), Sperling (2007d), Muga y Mihelcic (2008), Carey y Migliaccio (2010), Spellman (2009), WEF (2008), Singh y Srivastava (2011). Adaptada de Vera (201

1.3.1.2 Tipos de tratamiento no convencional

Estos pueden ser subdivididos en tratamientos en terreno y tratamientos en masa líquida. Los tratamientos en el terreno tienen como eje la reincorporación de los nutrientes de las aguas residuales al suelo a fin de fortalecer las capacidades productivas de este mientras se tratan las aguas. Este tipo de tratamiento fue redescubierto ya que en la Inglaterra de 1840 ya era utilizado y aún más, era el tratamiento aceptado de las aguas servidas (Crites, 2006). Dentro de los tratamientos de este tipo encontramos los filtros verdes y la escorrentía superficial. En cuanto a los tratamientos en masa líquida, estos realizan el tratamiento mediante el embalsamiento, por medio de diversos microorganismos (aeróbicos y anaeróbicos) y por plantas acuáticas (Crites, 2006). En este conjunto encontramos las lagunas facultativas y los humedales construidos. Estos últimos serán descritos en capítulos siguientes.

1.3.1.3 Tipos de tecnologías no convencionales utilizadas en Chile

En nuestro país, a nivel rural, existen más de 260 sistemas de tratamiento a lo largo de todo el territorio, casi el 60% de estos son sistemas de lodos activados relegando a los sistemas no convencionales a menos del 4% de la matriz (SUBDERE, 2012). Respecto a este último porcentaje la superintendencia de servicios sanitarios considera como sistemas no convencionales a las lagunas de estabilización, los biofiltros, los lombrifiltros y los humedales construidos y los define como sistemas que si bien no requieren gran infraestructura mecanizada si necesitan grandes extensiones de terreno para su implementación (SISS, 2015). En el caso de las tecnologías no convencionales aplicadas en zonas rurales, se ha recomendado el uso de tecnologías como los humedales construidos (HC) (Vera *et al.*, 2016), pues se ha demostrado que el uso de tecnologías convencionales en instalaciones de tratamiento de asentamientos rurales, supone el abandono de la instalación, cuando suceden los primeros problemas operacionales (Moreno *et al.*, 2003).

1.4 Humedales Construidos

Se entiende por humedal a los ecosistemas donde la superficie del agua se encuentra en o cerca de la superficie del suelo durante cierto periodo cada año para mantener las condiciones de suelo saturado y vegetación (Crites, 2006). Los humedales construidos son sistemas de tratamiento diseñados para embalsar el agua por medio de lagunas y canales aprovechando procesos naturales que involucran flora, suelos y bacterias para el manejo de aguas servidas (Vymazal, 2007). El sistema consiste en el desarrollo de un cultivo de macrófitas enraizadas sobre un lecho de grava impermeabilizado o membrana sintética. La acción de las macrófitas hace posible una serie de complejas interacciones físicas, químicas y biológicas a través de las cuales el agua servida es depurada progresiva y lentamente (Delgadillo, 2010). Además, estos sistemas constan de estructuras para controlar la dirección del flujo, tiempo de retención hidráulica y el nivel de agua. Según el tipo de sistema empleado el medio granular puede ser piedras, arena o grava (Sperling, 2007).

Los humedales construidos se han utilizado para tratar una amplia gama de aguas residuales dentro de los que se encuentran las aguas domésticas, aguas industriales (fabricación de papel, mataderos, refinerías entre otros), drenaje de faenas mineras, escorrentía superficial y fangos producidos por tratamientos convencionales (Delgadillo, 2010).

En cuanto al emplazamiento de estos sistemas requiere una gran área por habitante (0,8 a 20 m²/hab), por lo que se recomienda que su implementación se destine a zonas con baja densidad poblacional. En cuanto a la energía que utiliza este tipo de sistema presenta consumos inferiores a 0.2kWh/m³ (Kadlec y Wallace, 2009). Esto lo hace una herramienta ideal para zonas rurales. Estos sistemas de depuración están constituidos por lagunas o canales poco profundos (de menos de 1 m), plantados con vegetales propios de las zonas húmedas y en los que los procesos de descontaminación se basan en procesos físicos,

biológicos y químicos entre todos los componentes del humedal para el tratamiento de aguas servidas (Vymazal y Kröpfelová, 2008).

1.4.1 Tipos de humedales construidos

Existen varios tipos de clasificaciones en la identificación de los humedales. De acuerdo al régimen hídrico, se distinguen 2 tipos de humedales: Humedal de flujo superficial (HFS) y Humedal de flujo Subsuperficial (FSS), dentro del cual se pueden encontrar de flujo horizontal (HFSSH) y vertical (HFSSV). Además, pueden existir combinaciones entre estos para formar sistemas híbridos (Kadlec y Knight, 1996).

Los humedales de flujo Subsuperficial horizontal (HFSSH) son el concepto más clásico en lo que a humedales construidos se refiere (Sperling, 2007). Por lo general están diseñados para tratar efluente primario. Las aguas residuales están destinadas a permanecer bajo la superficie de los medios de comunicación y fluye en y alrededor de las raíces y rizomas de las plantas. Debido a que el agua no está expuesta durante el proceso de tratamiento, el riesgo asociado a la exposición humana o la vida silvestre para los organismos patógenos se reduce al mínimo (Kadlec y Wallace 2009). El flujo de agua es permanente y se aplica en la parte superior de un extremo y es recogido en el lado opuesto inferior por medio de un tubo de drenaje. El agua residual se trata a medida que fluye lateralmente a través de un medio poroso (flujo pistón). La profundidad del lecho varía entre 0,45 m a 1 m y tiene una pendiente de entre 0,5 a 1 % (Delgadillo, 2010), además de soportar cargas de alrededor de 6 g DBO/m²día (García et al., 2004).

La reducción de la materia orgánica se da por medio de la conversión biológica debido a la intervención de bacterias facultativas y anaeróbicas adheridas a las superficies de las plantas y los detritos del medio de relleno del humedal (Arias y Brix, 2003). Aun así, numerosas investigaciones han demostrado que la capacidad del transporte de oxígeno de las plantas acuáticas utilizadas es insuficiente para asegurar la descomposición aeróbica en la zona de los órganos subterráneos de

la planta y que la descomposición anaeróbica anóxica juega un papel importante en los humedales de flujo horizontal (Vymazal, 2008). La descomposición aeróbica la realizan bacterias heterótrofas aeróbicas degradando la materia orgánica a dióxido de carbono y agua. Por otro lado, la descomposición anaeróbica ocurre en etapas. Primero, mediante procesos de fermentación la materia orgánica pasa a ácidos grasos, alcoholes y gases. Estos son aprovechados por bacterias de tipo metanogénicas, sulfatoreductoras y desnitrificantes, lo que les permite obtener energía (Lettinga *et al.*, 2001).

En cuanto a los patógenos, entre los procesos que influyen en la eliminación de microorganismos en humedales se encuentran: los mecanismos físicos que incluyen filtración, sedimentación, agregación y acción de rayos ultra-violeta (Redder *et al.*, 2010). Mecanismos biológicos incluyen la antibiosis, ingestión de nematodos, protozoos o Cladóceras, bacterias líticas y los ataques de bacteriófagos y la muerte natural. Los factores químicos incluyen la oxidación, adsorción y la exposición a las toxinas emitidas por otros microorganismos y plantas (Keffala y Ghrabi, 2005).

Las concentraciones de microorganismos en el efluente de un humedal de flujo horizontal Subsuperficial son dependientes de las cargas de entrada, de la disminución de las poblaciones de coliformes fecales al interior del humedal y de la potencial reintroducción de bacterias debido a la fauna silvestre (Kadlec y Wallace, 2009).

Se ha evidenciado que el grado de eliminación de coliformes totales obtenido en HFSS y HFS es similar a diferentes condiciones y oscila entre 1 y 2 unidades logarítmicas/100mL aproximadamente (Zdragas *et al.*, 2002). Los HFSSH presentan disminuciones sobre 2,5 unidades log, tanto en humedales con y sin plantas (Keffala y Ghrabi, 2005; Kadlec y Wallace 2009). La eficiencia en eliminación para CF ha alcanzado valores del orden de 98% en los humedales horizontales (Keffala y Ghrabi, 2005), con concentraciones de salida de 10^2

NMP/100 mL (Quinonez-Diaz *et al.*, 2001; Nokes *et al.*, 2003). Por otro lado, la eficiencia de eliminación de *E. coli*, coliformes totales, *Clostridium*, estreptococos fecales, *Giardia*, *Cryptosporidium* y huevos de helmintos, disminuye en el período de verano, esto debido probablemente a que a temperaturas más altas se produce un aumento en oxígeno en la rizosfera, esto tiende a ser liberado a través de las raíces. Además, la acumulación de materia orgánica tiene lugar, dando lugar a un aumento de la tasa de crecimiento de los microorganismos (Molleda *et al.*, 2008).

La predación también es un factor importante en la eliminación de patógenos. En general la mayoría de los patógenos son alimento para los nematodos, rotíferos y protozoos, estos últimos han contribuido a la reducción de bacterias en el tratamiento con humedales (Scott y Tanner, 2005). Las características de diseño también juegan un rol importante. La primera mitad de los humedales eliminan aproximadamente el 80% de coliformes fecales (García *et al.*, 2004). En humedales de flujo horizontal, la eliminación está directamente relacionada con el tiempo de permanencia y del medio granular. Cuanto menor es el diámetro del medio granular, mayor es el nivel de eliminación (García y Corzo, 2008).

1.5 Desinfección

La presencia de patógenos es una de las problemáticas más importantes a la hora de enfrentar el tratamiento de aguas, tanto para potabilización como para disposición final de aguas servidas tratadas. Este proceso consiste en la inactivación o destrucción de microorganismos patógenos. Esto medido en base a la capacidad de controlar organismos indicadores de presencia patógena, como es el caso de coliformes y colifagos (Ascencio, 2015). Esta etapa del tratamiento de aguas está condicionada por factores como pH, temperatura, tiempo de contacto, concentración del desinfectante, microorganismos blanco y, las características del agua a tratar (Metcalf y Eddy, 2003). El mecanismo de acción de los sistemas de desinfección se basa en la destrucción de la pared celular, alteraciones a nivel genético (ADN o ARN) o inhibiendo la actividad enzimática.

En cuanto a la selección de un desinfectante es necesario considerar una serie de características dentro de las cuales se encuentran: a) Fácil acceso y precios accesibles; b) Capacidad de eliminación de olores; c) Concentración de solución homogénea; d) No absorbible por materia orgánica distinta a bacterias; e) No corrosivo; f) No tóxico para humanos y animales; g) Capaz de penetrar en superficies; h) Seguro de usar, transportar y almacenar; i) Soluble en agua; j) Estable; y k) Efectivo en condiciones ambientales (Metcalf y Eddy, 2003).

Organismos dedicados a la protección del medio ambiente, como U.S.EPA (2002), indican que para sistemas de desinfección aplicados a tratamientos descentralizados, es ideal, que por sobre todo, el sistema de desinfección sea sencillo y seguro de operar. Dos de los sistemas que mejor cumplen las condiciones de un buen desinfectante son el cloro y la radiación ultravioleta (U.S.EPA 2002).

1.5.1 Cloro

Es la tecnología de desinfección más común a nivel mundial, utilizado tanto para potabilización como para tratamiento de aguas servidas. Destaca como desinfectante por su fuerte capacidad oxidativa, inactivando reacciones enzimáticas, ácidos nucleicos y la desnaturalización de proteínas de las células bacterianas, además de reducir o eliminar olores y colores (Metcalf y Eddy, 2003). Distintas son sus formas de aplicación, dentro de las que destacan: gas (Cl_2), líquido (NaOCl , hipoclorito de sodio) o sólido ($[\text{Ca}(\text{OCl}_2)]$, hipoclorito de calcio). De estas la más recomendada para su aplicación en sistemas descentralizados son su forma líquida y sólida (U.S.EPA, 2002).

Una vez en el medio acuoso a tratar, el cloro adopta distintas formas entre las que están la demanda de cloro, cloro libre, cloro combinado y cloro total. La demanda de cloro está dada por la cantidad de cloro que es utilizada por bacterias, algas, compuestos orgánicos y sustancias inorgánicas, tales como hierro, manganeso y amoníaco, de manera instantánea. Una vez completada el cloro se considera

como residual o libre. El cloro libre es el que se encuentra en forma de ácido hipocloroso (HOCl) e ion hipoclorito (OCl⁻), producto del proceso de hidrolisis que se da al contacto entre el cloro y el agua. Estas formas son las más efectivas para la desinfección aunque su presencia está fuertemente relacionada con las condiciones de pH y temperatura (Percival *et al.*, 2014). El cloro combinado aparece producto de la interacción de HOCl con amoníaco, lo que da paso a la formación de cloraminas. Esta relación reduce la capacidad germicida del cloro aumentando los tiempos de contacto necesarios para que se logre el mismo nivel de desinfección (Percival *et al.*, 2014). Finalmente el cloro total, es la suma de cloro libre más el cloro combinado. Su importancia radica en que su determinación junto con la determinación del cloro libre permite cuantificar el cloro combinado.

La dosis de cloro, en base a la relación concentración por tiempo, estará siempre sujeta a las condiciones del agua a tratar, es decir, depende del microorganismo a tratar (Metcalf y Eddy, 2003). Por ejemplo, para lograr 4 uLog de eliminación de bacterias se necesitan CxT de cloro libre entre 10 a 12 mg·min/L, mientras que los virus, son necesarios CxT de 6 a 7 mg·min/L.

1.5.2 Luz ultravioleta

Proceso físico en el que se transfiere energía desde una lámpara UV al material genético (ARN y ADN) de un organismo. Se basa en la emisión de luz por parte de una lámpara. Para obtener un efecto germicida el rango óptimo de longitud de onda está entre los 250-270 nm (U.S.EPA, 1999). Las principales ventajas que posee la utilización de lámparas UV son: a) efectividad de inactivación en virus y esporas; b) eliminación del riesgo de transporte y almacenamiento de químicos peligrosos; c) efecto residual peligroso para biota inexistente; d) amigable con operadores; e) tiempos de contacto breves; y f) equipos de desinfección con bajos requerimientos de espacio.

Entre los factores que condicionan la eficiencia de este método de desinfección se destacan: a) Las características del agua a tratar; b) La intensidad de la luz; y c) Las propiedades hidráulicas del sistema de desinfección (Metcalf y Eddy, 2003).

El mecanismo de acción de esta tecnología consiste en la penetración de la radiación UV a nivel genético lo que produce daños en la célula, generando retardo en la capacidad de sobrevivencia por inactivación (incapacidad de replicarse) o muerte celular. Pese a esto algunas células sufren fenómenos de fotoreactivación o reactivación en oscuro. Ambas consisten en la reactivación del material inhibido o dañado. La primera se efectúa en presencia de luz y la segunda en ausencia de esta (U.S.EPA, 2004).

La desinfección por medio de luz UV tiene como factores de efectividad el tiempo de contacto, la intensidad de la luz, el grosor de la columna de agua, el nivel de absorbancia de esta, su turbidez, además de parámetros como la configuración del sistema y la temperatura (U.S.EPA, 2002). La relación entre la intensidad de la luz (mW/cm^2) y el tiempo de contacto (s) configuran la dosis de luz UV. Esta relación se expresa como mili-Joule por centímetro cuadrado (mJ/cm^2), que es equivalente al segundo mili-Watts por centímetro cuadrado ($\text{mW}\cdot\text{s} / \text{cm}^2$). Al igual que en el caso del cloro, la dosis varía en función de los microorganismos que se quiera atacar. Así, Para las bacterias, las dosis UV varían entre 80 a 100 mJ/cm^2 , mientras que para los virus, la dosis varía entre 70 a 90 mJ/cm^2 (Metcalf y Eddy, 2003).

1.6 Reúso

El reúso de agua consiste en la utilización del agua recuperada desde el efluente de un sistema tratamiento de aguas servidas, sean estas domésticas, municipales o industriales en un propósito de beneficio directo distinto (Healing, 2009). Esta nueva entrada al sistema aparece como fuente alternativa de agua para una amplia variedad de aplicaciones, incluyendo el paisaje y riego agrícola, WC, urinarios, procesamiento industrial, refrigeración central eléctrica, la creación de

hábitats de humedales, la restauración y el mantenimiento y recarga de aguas subterráneas (USEPA, 2004).

Healing (2009) destaca que el proceso tratamiento de agua debe ir más allá de un tratamiento primario y secundario. Dentro de las consideraciones se hace esencial que el tratamiento avanzando permita la eliminación de nutrientes, mediante métodos biológicos o químicos; compuestos orgánicos y metales, mediante adsorción con carbón o precipitación química; y la eliminación de sustancias orgánicas.

El reúso puede dividirse en industrial, el cual puede entenderse como aguas de enfriamiento, de calderas y del proceso industrial en sí; urbano, para riego de plazas, campos de golf, suministro para bomberos, sistemas de control de material particulado en la construcción, suministro para aseo y limpieza; potable indirecta, el que se da cuando se descarga efluente tratado a un cuerpo de agua que es aprovechado por otra planta de tratamiento; y potable directa, del cual solo existen registros en África (Healing, 2009).

Actualmente los países desarrollados ya lo implementan en zonas urbanas, debido al alto desarrollo en lo que respecta a tratamiento de aguas condicionado por los elevados estándares de calidad en lo que a reutilización del agua se refiere (Angelakis y Gikas, 2014). Por su parte, el reúso mayoritario en la agricultura se mantiene en países en vías de desarrollo (Chen *et al.*, 2013). El principal potenciador de esta opción de reúso, se basa en que las aguas residuales poseen recursos esenciales para la agricultura, estos son los nutrientes. Así tanto N como P son aportados mediante las aguas reutilizadas, pero además esta entrega micronutrientes necesarios para las plantas como los son Al, Mg, Zn, Cu, Mb, Ni, B y Co (Lubello *et al.*, 2004). Por otro lado, debido a su contenido en NT (Lubello *et al.*, 2004), la utilización de aguas reutilizadas permite un ahorro considerable en lo que a fertilizantes se refiere. Así, el reúso no solo se traduce en aprovechamiento de nutrientes sino que también el ecosistema deja de recibir una carga

considerable de estos, reduciéndose el riesgo de eutrofización (Chen *et al.*, 2013). A nivel internacional los requerimientos de calidad referidos a bacterias y patógenos presentes en las aguas residuales, se exige una concentración mínima de coliformes fecales, dependiendo las categorías de los usos de las aguas. Por ejemplo, FAO (1999) y U.S.EPA (2012a), coinciden en la definición de 3 categorías de condiciones de reutilización para riego. La primera se centra en aquellos cultivos que se consumen de manera directa sin procesamiento previo. La segunda que abarca todos aquellos cultivos que se consumen procesados, como trigo y dependiendo del tipo de riego que se utilice con los efluentes el grupo expuesto corresponderá a los agricultores y niños menores de 15 años. Finalmente una tercera categoría que se centra en el riego de elementos que no son consumidos y que no tienen contacto directo con las personas.

1.6.1 Aplicaciones de agua reutilizada

En el mundo, el agua proveniente de un uso y tratamiento previo tiene una diversidad de usos entre los que encontramos reúso urbano, asociado riego de parques y plazas; embalses recreativos y nieve artificial; reúso medioambiental aplicado a recuperación de humedales y aumento de caudal de ríos; reúso industrial aplicado a torres de enfriamiento, calderas, procesos de producción de petróleo y gas natural y elaboración de comida preparada; recarga de cuerpos de agua subterránea; reúso como agua potable directa e indirectamente; y finalmente el reúso en la agricultura (U.S.EPA, 2012a). En la Tabla 3 se presenta un resumen de guías sugeridas para uso de aguas tratadas en el reúso agrícola. Esta agrupa las categorías definidas por FAO (1999) y U.S.EPA (2012a), para las distintas formas de reúso de agua en el riego. El reúso en las actividades agrícolas posee grandes ventajas entre las que destacan que el costo del tratamiento de las aguas residuales es generalmente menor que el costo del agua potable de fuentes no convencionales de agua, además es una alternativa para complementar y ampliar las fuentes de agua dulce para el riego aportando el hecho de tener un alto potencial para los procesos agrícolas pudiendo representar una fuente barata de

fertilizante (Mosse *et al.*, 2010 y U.S.EPA, 2012a). Además, resuelve la escases hídrica; se eliminan cantidades considerables de agua residual; genera beneficios en cuanto al aprovechamiento de nutrientes, gran parte de los nutrientes en las aguas reutilizadas se encuentran en las formas que pueden ser fácilmente utilizadas por las plantas (Duncan *et al.*, 2009); al aplicarse a gran escala se ve reducido el riesgo de contaminación y se promueve la recarga de aguas subterráneas (Lubello et al 2004). Sin embargo, a la hora de realizar reúso de aguas servidas, deben hacerse consideraciones como la sensibilidad y tolerancia de la planta, características del suelo, las prácticas de gestión de riego y drenaje y por supuesto la calidad del agua reutilizada.



Tabla 3. Guías sugeridas para uso de aguas tratadas en el reúso agrícola

Condiciones de reutilización	Grupo expuesto	Opción de tratamiento	Monitoreo agua	Distancia de seguridad	Calidad del agua residual U.S.EPA	Calidad del agua residual FAO
Reúso agrícola en cultivos que se consumen y no se procesan comercialmente	Agricultores, consumidores, público	Secundario	pH: semanalmente	A 15 m de fuentes o pozos de agua potable. A 30 m en caso de medios porosos.	pH 6,0-9,0	pH 6,5-8,4
		Filtración	DBO: semanalmente		<10 mg/L DBO	<10 mg/L DBO
		Desinfección	Turbidez: Continuo Coliformes fecales: Diario Cl2 Residual		<2 UNT 1 mg/L Cl2 residual (min.)	<2 UNT <14 NMP ^a /100 mL <1 huevos/L ^b
Reúso agrícola en cultivos que se consumen y se procesan comercialmente	Agricultores, pero no niños <15 años, y comunidades cercanas	Secundario	pH: semanalmente	A 90 m de fuentes o pozos de agua potable.		
		Desinfección	DBO: semanalmente SST: Diario Coliformes fecales: Diario Cl2 Residual: Continuo	A 30 m de zonas permitidas al público (riego por aspersion).	pH 6,0-9,0 <30 mg/L DBO <30 mg/L SS <200 NMP ^a /100 MI	pH 6,5-8,4 <30 mg/L DBO <30 mg/L SS <200 NMP ^a /100 mL
Reúso agrícola en cultivos que no se consumen	Ninguno				1 mg/L Cl2 residual (min.)	

^a: Coliformes fecales. ^b: Nematodos intestinales. Adaptada de U.S EPA (2012a) y FAO (1999).

Esta temática en países en vía de desarrollo, tales como Chile, es un tema poco discutido y estudiado (Vera *et al.*, 2016). Sin embargo, países que en las últimas décadas han potenciado el alcance de los sistemas de tratamiento de aguas servidas han desarrollado sistemas de tratamiento afines con la realidad de sus comunidades. En China por ejemplo, gracias al reúso de aguas se ha visto reducido el aporte de DQO y $N-NH_4^+$ a cuerpos del agua en un 80% en Toneladas/año (Lyu *et al.*, 2016). Las principales tecnologías utilizadas para tratamiento con posterior reúso en riego son: a) separaciones físicas como sistemas de filtración media, por membrana y tratamientos electroquímicos; b) tratamientos biológicos entre los que destacan sistemas anaeróbicos, lagunas de estabilización y humedales construidos; y c) oxidantes como hipoclorito de sodio, luz ultravioleta (UV) y aplicación de Ozono (O_3) (Norton-Brandao *et al.*, 2013).

Por otro lado, en lo que ha sistemas de desinfección se refiere, la aplicación de luz ultravioleta combina las ventajas de dos tecnologías (Ozono e Hipoclorito de Sodio), que son bajos costos de operación y no formación de subproductos (Norton-Brandao *et al.*, 2013). En Chile, según datos de Subdere (2012), existen 10 PTAS (zona centro) que utilizan la tecnología de humedales construidos, 5 de ellas mantienen un funcionamiento bueno y 9 de ellas cumplen con la normativa. En contraste a esto no existen estudios sobre sus parámetros de funcionamiento ni sobre reutilización de sus efluentes (Vera *et al.*, 2016), pero su existencia supone una oportunidad para el desarrollo y puesta en marcha de planes de reúso. Así, por ejemplo, Fundación Chile (2013) propone una configuración de tratamientos aplicables a sistemas descentralizados y agroindustriales de tratamiento de agua con efluente apto para reúso. Dicho sistema consta de una fosa séptica para eliminación de sólidos, un sistema de humedal construido con flujo Subsuperficial para eliminación de materia orgánica, un sistema de desinfección para la eliminación de patógenos y un estanque de acumulación. Aunque dicha configuración está pensada para un universo aportante de 5 personas (Área unitaria de $1,69 \text{ m}^2/\text{hab}$), sus rangos de eliminación calculados son

considerables tanto para tanto para DBO (80-95%) como para SST (40-97%) y NT (75-95%). A nivel de patógenos si bien la tecnología ha demostrado ser un aporte en la remoción de estos, aun así requiere de sistemas de desinfección.

1.6.2 Ejemplos de reúso

El reúso actualmente se practica a lo largo y ancho del de nuestro planeta. Es así como se conocen experiencias como la de Jinotepe (Nicaragua) en la que se irrigó una parcela de 1100 m² en la que se cultivó maíz (*Zea mays L.*) con los efluentes de planta de tratamiento de la poblado de Jinotepe (tratamiento por fosa filtro) la cual recogía las aguas servidas de 1/3 de la población del poblado correspondiente en ese entonces a casi 30000 habitantes (Umaña, 2007). Al respecto Umaña indica que el efluente cumple con las directrices de la organización mundial de la salud que lo catalogan como apto para riego restringido (OMS, 1989). Finalmente, como resultado se obtuvo un rendimiento de 2,58 ton/ha de maíz, el cual fue superior a la media tradicional (1,61 ton/ha). Se debe considerar además que no se utilizaron fertilizantes para el cultivo aprovechando así las características del efluente. Como esta existen varias experiencias como por ejemplo el riego de una parcela de frutales perennes en Maracaibo (Venezuela) el cual presentó un comportamiento similar al observado en una plantación regada con agua fresca. Además, de no presentar problemas de salinidad asociados comúnmente a las aguas reutilizadas (Trujillo *et al.*, 2000).

En Brasil existen varias experiencias de reúso, entre ellas la del nordeste de este país donde un grupo de investigadores utilizaron el efluente generado por un reactor anaerobio de flujo ascendente (sigla inglés-UASB), una laguna de maduración y agua de pozo para regar un cultivo de pimentón. Se evidenció un comportamiento normal del cultivo en todos los casos a excepción del regado con el efluente de laguna de maduración el cual presento un pH alto (Lasso, 2011).

De modo semejante, en la ciudad de Curitiba se utiliza el reúso en una planta de hortalizas teniendo la cautela de que el personal no entre en contacto con el

efluente del sistema de tratamiento (Ongley, 1997). En Argentina el sistema más grande de reúso irriga más de 2000 ha con el efluente de una planta de tratamiento. Dentro de los cultivos expuestos se encuentran olivos, alfalfa, frutales, ajo, tomate entre otros. También hay experiencias de reúso asociadas a humedales construidos dentro de las que destacan las que se mencionaran a continuación. En México se implementó un sistema combinado de digester anaeróbico junto con un humedal de flujo horizontal (600 m²). El sistema tubo un rendimiento de 88,5% de DBO₅, DQO 87,4%, SST 89% y el 99% en coliformes fecales, generando un efluente utilizado en riego de plantas ornamentales (Rivera, 1997).

1.7 Efectos del riego en el suelo y las plantas

El suelo se compone de una interface gaseosa, líquida y sólida (IMS, 2001). La interface sólida a su vez está compuesta de arena, cuyas partículas son identificables individualmente y cuyo diámetro se encuentra entre 0,05 – 2 milímetros (mm). Luego le sigue el Limo, cuyas partículas de tamaño medio ya no son distinguibles a ojo descubierto y cuyo diámetro varía entre 0,002 – 0,05 mm. A continuación está la arcilla que posee un tamaño inferior a 0,002 mm (Mamo *et al.*, 2003). A nivel no estructural, se encuentra la materia orgánica e inorgánica, los minerales (primarios y secundarios) y óxidos libres (Wortmann *et al.*, 2015).

La materia orgánica del suelo y el humus son conjuntos conformados por el residuo parcialmente descompuesto de plantas, animales y otros organismos. La materia orgánica se refiere a todo el material orgánico, incluidos los residuos de cultivos frescos (Camacho-Tamayo, 2013). Su presencia en el conjunto de suelo supone diversos beneficios, tanto estructurales como de índole agrícola (McCauley *et al.*, 2017). Dentro de ellos, destaca su función como agente de unión de las partículas de suelo, lo que promueve el movimiento del agua y la penetración de raíces (Camacho-Tamayo, 2013). Por otro lado, su gran capacidad de atraer los cationes le permite ser el principal reservorio tanto de micronutrientes

como de macronutrientes lo que se traduce en una mayor fertilidad del suelo (McCauley *et al.*, 2017).

Tanto el material particulado estructural, como la materia orgánica poseen carga, la cual le permite al suelo mantener un estado de conductividad e interacción iónica (Camacho-Tamayo, 2013). Esto además genera la formación de coloides. Estos poseen una gran área superficial y constituyen la porción químicamente activa del suelo. Cada uno posee una carga eléctrica mayoritariamente negativa (Jones y Olson-Rutz, 2016).

En la Figura 1, se describe la relación entre la carga iónica del coloide de suelo y las formas iónicas de los nutrientes presentes en el. Los cationes se mantienen sobre los coloides del suelo (arcilla y materia orgánica), lo que permite reducir la remoción de estos por procesos de lixiviación (Jones y Olson-Rutz, 2016).

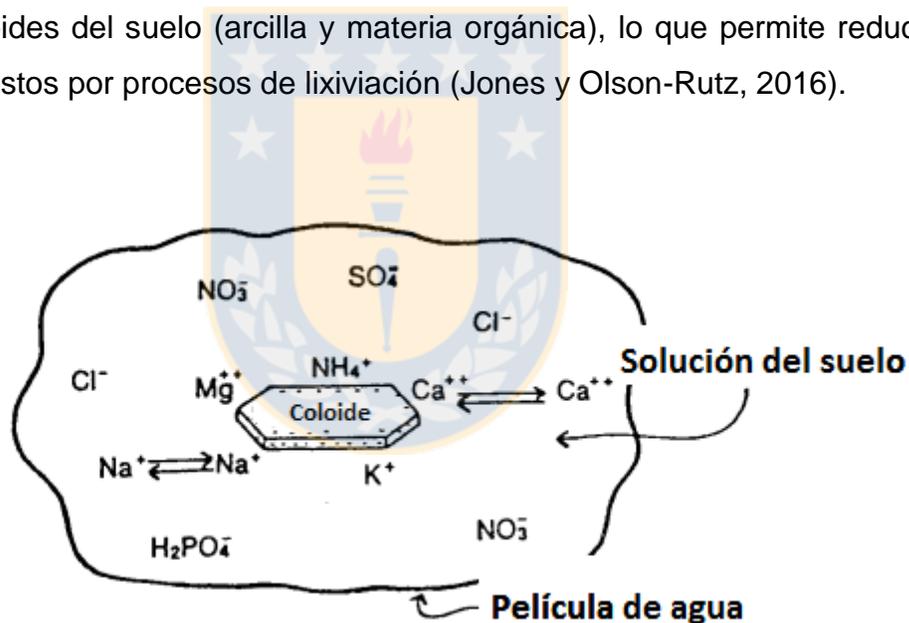


Figura 1. Esquema del intercambio catiónico en la solución de suelo

Los coloides del suelo tienen cargas eléctricas positivas mínimas. Dado que los aniones transportan cargas eléctricas negativas, no son retenidos por los coloides del suelo. Los aniones tales como nitrato, sulfato y cloruro son muy solubles y se mueven con agua (Hodges y Crozier, 1996).

La carga negativa total en el suelo se llama "capacidad de intercambio catiónico", o CIC, y es una buena medida de la capacidad de un suelo para retener y suministrar nutrientes a un cultivo (Jones y Olson-Rutz, 2016). La CIC es una medida de la cantidad total de cationes intercambiables que pueden ser retenidos por el suelo, lo que la convierte en un buen indicador de la fertilidad del suelo (Camacho-Tamayo, 2013).

Dentro de los iones con mayor movilidad encontramos NO_3^- , NH_4^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} , y en menor medida, o bien inmóviles, se destacan los iones metálicos (Cu^{+2} , Fe^{+2} , Fe^{+3} , Mn^{+2} , Ni^{+2} , Zn^{+2}). La mayoría de los suelos tienen mucho más nutrientes de los que necesita una planta en una temporada de crecimiento, sin embargo a menudo muy pocos de estos nutrientes están en solución (Jones y Olson-Rutz, 2016). Dicha movilidad se relaciona directamente con la fertilidad del suelo. Al ser móviles, los nutrientes son fácilmente tomados por las plantas o bien lixiviados lo que requiere un mayor aporte de estos a la hora de cultivar. Por su parte, los nutrientes de baja movilidad, son almacenados lo que les permite a las plantas tenerlos con mayor disponibilidad y su aplicación en los suelos suele ser menos recurrente (Hodges y Crozier, 1996). La capacidad de los suelos para atraer y mantener nutrientes cargados positivamente es una de las propiedades más importantes del suelo en la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas (Mullins y Hansen, 2017).

La capacidad de intercambio de cationes es mayor en suelos con grandes cantidades de arcilla y materia orgánica, y es menor en suelos ácidos. El pH del suelo afecta fuertemente la concentración de los nutrientes. Con niveles de pH cerca de 7 que generalmente tienen una disponibilidad óptima (Jones y Olson-Rutz, 2016). Por el contrario, un pH más bajo se traduce en una CIC más baja, porque la mayor concentración de iones H^+ en solución neutralizará las cargas negativas sobre arcillas y materia orgánica.

Los suelos con altos CIC contienen más nutrientes cargados positivamente como Ca^{+2} . Sin embargo, estas atracciones son débiles, lo que permite un intercambio entre los nutrientes en la película de agua y los nutrientes presentes en la superficie de la partícula del suelo, por lo que los nutrientes son absorbidos por la planta (Mullins y Hansen, 2017).

1.7.1 Interacción de los nutrientes entre suelo y planta

Los cultivos obtienen nutrientes y agua del suelo a través de sus raíces. Las raíces de las plantas normalmente continúan creciendo mientras las condiciones del suelo como la humedad, el aire, los nutrientes, la temperatura, las sales solubles y el labrado son favorables (Comfort y Frank, 2000).

Es más difícil para los nutrientes entrar en la raíz a través de la zona más madura de la raíz debido a una restricción llamada "tira de Casparian" la cual corresponde a una estructura endodérmica de las raíces de las plantas que permite regular el ingreso de sales a la planta bajo condiciones de estrés salino (Karahara *et al.*, 2004). Por lo tanto, los niveles de nutrientes en el suelo profundo probablemente se vuelven más importantes más adelante en la estación de crecimiento, especialmente para las plantas profundamente arraigadas. Las raíces se extienden lateralmente y verticalmente a medida que la planta crece para aprovechar las áreas dentro del suelo que tienen más agua y nutrientes (Jones y Olson-Rutz, 2016).

En la Figura 2, se observa como el intercambio de iones se da en las inmediaciones, tanto de las raíces como también del coloide de suelo. Las raíces de las plantas absorben los nutrientes de la película de agua alrededor de los coloides del suelo (Jones y Olson-Rutz, 2016). Los inhibidores más comunes del crecimiento de las raíces son el suelo seco, la falta de aire del suelo debido al exceso de agua y al mal drenaje, y la compactación del suelo.

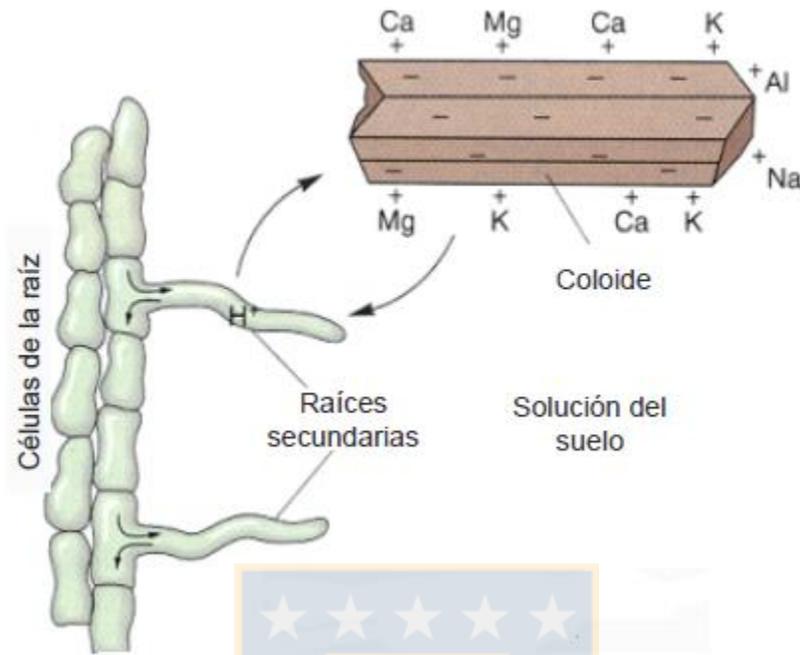


Figura 2. Intercambio iónico entre el coloide de suelo y la raíz.

El paso de los iones desde las proximidades del coloide hacia la película de agua, se da principalmente por la interacción de los iones presentes en la solución de suelo los cuales se trasponen con los más próximos al coloide, reemplazándolos, lo que genera una mayor disponibilidad de nutrientes para las raíces de la planta (Mullins y Hansen, 2006).

Los nutrientes móviles ingresan a la raíz mediante mecanismos de advección, transportados por el ingreso del agua a la planta. Este movimiento denominado “flujo de masa”, se lleva a cabo a medida que las plantas extraen el agua, el agua se mueve hacia la raíz y transporta nutrientes móviles con él creando una mayor zona de absorción de raíz para estos nutrientes (Havlin *et al.*, 1999). Por su parte, los nutrientes inmóviles ingresan a la planta por difusión. Dicho proceso se basa en el movimiento de iones desde una zona de alta concentración a zonas de menor concentración. A medida que las raíces de las plantas absorben nutrientes del agua del suelo, los iones se difunden hacia las raíces como resultado de la

menor concentración iónica cerca de la raíz. La difusión funciona sólo a distancias muy cortas (Jones y Olson-Rutz, 2016).

Los cationes NH_4^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Zn^{+2} , entre otros, reaccionan con las arcillas del suelo y se mantienen disponibles para que, mediante un intercambio de protones (H^+), puedan ser incorporados por las raíces. Por su parte, los aniones con cargas negativas, incluyendo NO_3^- , SO_4^- , PO_4^{-3} , etc. son repelidos por las arcillas del suelo. Estos aniones, se mueven hacia arriba y hacia abajo en el suelo cuando el agua se mueve. Por lo tanto, pueden perderse por lixiviación (Horneck *et al.*, 2011).

Otro factor que afecta la absorción de nutrientes por las plantas es la interceptación de las raíces, o el crecimiento de las raíces en zonas inexploradas del suelo. Los cultivos de raíces profundas pueden forrajear eficazmente en el subsuelo agua y nutrientes móviles como nitrato y sulfato. La competencia de las raíces para los nutrientes móviles es mucho mayor que para los nutrientes inmóviles debido a la extensión de las zonas de absorción de la raíz (Mullins y Hansen, 2006).

1.7.2 Nutrientes esenciales para las plantas y su influencia en el desarrollo

Uno de los principios más importantes de la nutrición de las plantas es la "ley de los factores limitantes". Esta ley establece que el rendimiento o el crecimiento de las plantas estará limitado por el factor cuya disponibilidad sea indispensable para el desarrollo, como por ejemplo el nitrógeno en el caso de los nutrientes o desde un punto de vista de movimiento, el agua (Kulhavy *et al.*, 2014). Del mismo modo, una limitación de un nutriente puede impedir la absorción de otros y, en última instancia, afectar el rendimiento y la calidad de los cultivos. La absorción de nutrientes por las plantas depende tanto de la capacidad del sistema radicular para absorber nutrientes como de la concentración de nutrientes en la solución del suelo (Jones y Olson-Rutz, 2016).

Se han definido 14 nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas los cuales se indican en la Tabla 4. Cada uno de ellos cumple un rol fundamental en los procesos de la planta como por ejemplo, el calcio el cual juega un papel en la estructura y permeabilidad de las membranas como componente de la pared celular o el Magnesio, que es un componente principal de la clorofila (Jones y Olson-Rutz, 2016).

Tabla 4. Nutrientes esenciales de las plantas, formas de absorción y concentración típica.

Nutriente (Símbolo)	Forma de Absorción	Concentración en planta*
Macronutrientes		
Nitrógeno (N)	NH_4^+ ; NO_3^-	1 - 5%
Fosforo (P, P_2O_5)	H_2PO_4^- ; HPO_4^{2-}	0,1 - 0,4%
Potasio (K, K_2O)	K^+	1 - 5%
Azufre (S)	SO_4^{2-}	0,1 - 0,4%
Calcio (Ca)	Ca^{2+}	0,2 - 0,1%
Magnesio (Mg)	Mg^{2+}	0,1 - 0,4%
Micronutrientes		
Boro (B)	H_3BO_3 ; H_2BO_3^-	6 - 60 ppm
Hierro (Fe)	Fe^{2+}	50 - 250 ppm
Manganeso (Mn)	Mn^{2+}	20 - 500 ppm
Cobre (Cu)	Cu^+ ; Cu^{2+}	5 - 20 ppm
Zinc (Zn)	Zn^{2+}	21 - 150 ppm
Molibdeno (Mo)	MoO_4^{2-}	< 1 ppm
Cloro (Cl)	Cl^-	0,2 - 2 ppm

*: Concentración de peso seco

Los nutrientes se clasifican en micro y macronutrientes. Dentro de los macronutrientes, se destacan el Nitrógeno, el Fósforo y el Potasio, como nutrientes primarios debido a que su deficiencia es mucho más común que la de los otros tres (Ca, Mg y S) (Roy *et al.*, 2007).

El nitrógeno es el nutriente mineral más abundante en las plantas (1 – 5%, del peso seco). Las plantas, lo absorben ya sea como ion nitrato (NO_3^-) o como ion amonio (NH_4^+). Las concentraciones de NO_3^- y NH_4^+ en el suelo dependen de la

actividad biológica y por lo tanto fluctúan con cambios en condiciones tales como la temperatura y la humedad (Horneck *et al.*, 2011). El nitrógeno amónico normalmente no se acumula en el suelo, ya que la temperatura del suelo y las condiciones de humedad adecuadas para el crecimiento de las plantas son también ideales para la conversión de NH_4^+ en NO_3^- (Horneck *et al.*, 2011). Dicho nutriente forma parte de la clorofila, la cual otorga la pigmentación verde en las hojas y es un componente esencial de todas las proteínas. Es responsable del color verde oscuro del tallo y de las hojas, del crecimiento vigoroso, de la ramificación / tallado, de la producción de la hoja, de la ampliación del tamaño, y de la formación del rendimiento (Roy *et al.*, 2007).

Deficiencias de nitrógeno en las plantas producen una marcada reducción de la tasa de crecimiento, lo que se traduce en un aspecto corto y seco. El tallo es pobre y el área foliar se reducen. Como el nitrógeno es un componente de la clorofila, su deficiencia aparece como clorosis de las hojas. Por otro lado las hojas pueden volverse marrones y morir. Como resultado, el rendimiento de los cultivos y el contenido de proteínas se reducen (Roy *et al.*, 2007). Por su parte, los eventos de toxicidad del nitrógeno incluyen períodos de crecimiento prolongado (vegetativo) y retraso en la maduración del cultivo. Una concentración alta de nitrógeno en la forma NH_4^+ , puede ser tóxica para el crecimiento de las plantas, particularmente cuando la solución es alcalina. La toxicidad resulta del amoníaco (NH_3), el cual es capaz de difundirse a través de las membranas de la planta e interferir con el metabolismo de la planta (Horneck *et al.*, 2011).

El fósforo es absorbido como ion ortofosfato, ya sea como H_2PO_4^- o HPO_4^{2-} , en función del pH del suelo. Con un pH mayor (mas alcalino), la proporción relativa de H_2PO_4^- disminuye y la de HPO_4^{2-} aumenta (Hodges y Crozier, 1996). Es un anión que no se mueve libremente en los suelos en gran parte porque forma compuestos relativamente insolubles con hierro y aluminio en suelos ácidos y calcio en suelos de pH alto. El fósforo es esencial para el crecimiento, la división celular, el alargamiento de las raíces, el desarrollo de semillas, frutos y la

maduración temprana. Además forma parte de varios compuestos incluyendo aceites y aminoácidos (Roy *et al.*, 2007).

Una deficiencia en la concentración de fósforo (estrés), se traduce en un traspaso del fósforo desde las hojas viejas hacia el tejido joven. Dicha deficiencia produce un retraso en el crecimiento, la formación del tallo y el desarrollo de raíces y lo que se traduce en un retraso de la maduración. Los síntomas de la deficiencia comienzan generalmente en hojas más viejas. Se desarrolla un color azulado-verde a rojizo, que puede dar lugar a tonos de bronce y color rojo. Una disminución de la relación rama / raíz es una característica de la deficiencia de fósforo (Hodges y Crozier, 1996). Por su parte, a niveles extremadamente altos de Fósforo pueden causar síntomas de toxicidad, como un borde acuoso en el tejido foliar, que posteriormente se convierte en necrótico y en casos muy graves, la toxicidad del fósforo puede resultar en la muerte de la planta (Roy *et al.*, 2007).

El potasio es el segundo nutriente mineral más abundante en las plantas después del nitrógeno es requerido por las plantas en cantidades aproximadamente iguales o ligeramente mayores que este. Es 4-6 veces más abundante que algunos macronutrientes (P, Ca, Mg y S) y es absorbido en la forma K^+ (Horneck *et al.*, 2011). El potasio está involucrado en el trabajo de más de 60 enzimas, en la fotosíntesis y el movimiento de sus productos a los órganos de almacenamiento (semillas, tubérculos, raíces y frutas), el manejo del agua y la resistencia contra una serie de plagas, enfermedades y estrés (Escarcha y sequía) (Roy *et al.*, 2007). Desempeña un papel en la regulación de la apertura estomática y, por lo tanto, en las relaciones de agua internas de las plantas. Como resultado, la fertilización con potasio se asocia frecuentemente con la mejora de la calidad del cultivo, así como con mejores propiedades de manejo y almacenamiento (Hodges y Crozier, 1996).

Los síntomas de deficiencia de potasio se manifiestan en los tejidos más antiguos debido a la movilidad del de este nutriente. El síntoma general es la clorosis a lo

largo del límite de las hojas, seguido de marchitez en las puntas de las hojas. La zona afectada se contrae a medida que aumenta la gravedad de la deficiencia (Hodges y Crozier, 1996). Dado que la deficiencia de Potasio puede dar lugar a la eliminación de las hojas, reduce la capacidad de la planta para producir hidratos de carbono y, en última instancia, los rendimientos. Las plantas deficientes en potasio son atrofiadas y desarrollan sistemas de raíces pobres. Tales plantas tienen: crecimiento lento y atrofiado; Tallos débiles; Mayor incidencia de plagas y enfermedades; bajo rendimiento; Granos arrugados; Y, en general, la mala calidad de los cultivos. La deficiencia severa provoca defoliación prematura, retraso en la madurez y muerte de la planta. (Roy *et al.*, 2007).

1.8 Bioensayos de toxicidad

La evaluación de riesgo ambiental ha alcanzado, en los últimos años, gran importancia, particularmente debido al gran número de contaminantes que son potencialmente dañinos y que pueden afectar el funcionamiento de los ecosistemas (Vighí, 1989).

Los bioensayos de toxicidad son una herramienta utilizada regularmente en países desarrollados para evaluar la calidad de los residuos líquidos como complemento de los tradicionales análisis químicos (Torres, 2003). Un bioensayo de toxicidad consiste en la exposición de un conjunto seleccionado de individuos a distintas concentraciones de una muestra durante un tiempo predeterminado y bajo condiciones estandarizadas en un laboratorio con el objetivo de cuantificar el efecto negativo que puede tener la muestra en los individuos bajo análisis (U.S.EPA, 2012b).

El bioensayo de toxicidad se basa en que los organismos en general presentan algún grado de respuesta a distintas concentraciones (Torres, 2003), y consiste en exponer a un grupo de organismos de una determinada especie a un gradiente de diluciones de una muestra madre durante un tiempo predeterminado y bajo condiciones estandarizadas en un laboratorio. Esta se manifiesta en distintos

órganos de un individuo. Al aplicarse en plantas esta se puede manifestar: a) Por reducción del crecimiento de la planta; b) Enrollamiento foliar; c) Manchas; d) Clorosis; e) Necrosis internerval; y f) Reducción de la productividad de la planta (Carmona *et al.*, 2007).

Organizaciones como U.S.EPA recomiendan que los ensayos para el estudio de la actividad potencialmente toxica de efluentes aplicados en el ambiente se realicen con plantas superiores (Grant, 1999). Dentro de las ventajas que implica el uso de plantas superiores para la realización de bioensayos destacan su bajo costo y adquiribles en el mercado, buena correlación con otros sistemas de prueba, son muy fiables y generan candidatos para estudios genotoxicos (Aguiar *et al.*, 2016). En los ensayos con plantas, la germinación y crecimiento de raíz son las principales variables para análisis fitotóxico en plantas (Andrade *et al.*, 2010), debido a que se ha demostrado que la raíz es más sensible a menores concentraciones de una sustancia toxica que en la germinación lo que la hace un indicador más sensible para la determinación de efectos de tipo biológico (Torres, 2003).

1.8.1 Bioensayo de germinación

Es una ensayo estático de toxicidad en la cual se determina la respuesta de un organismo vivo ante una sustancia, es decir, permite evaluar el efecto toxico a nivel del crecimiento radicular y el desarrollo de la semilla a diferentes concentraciones de los compuestos tóxicos (Torres, 2004). Las pruebas de toxicidad en semillas nos proporcionan datos para cuantificar el efecto tóxico y la contaminación en las comunidades vegetales que se encuentran cercanas a las laderas de cuerpos de agua en las que se depositan sustancias ajenas al medio (Castillo, 2004). El signo visible de que la germinación está completa es generalmente el desarrollo de la radícula a través de las estructuras que rodean al embrión. Dicho proceso recibe el nombre de germinación visible (Bewley, 1997). Puede aplicarse en la evaluación de la toxicidad de compuestos puros solubles, de

aguas superficiales, aguas subterráneas, aguas para consumo humano, aguas servidas domésticas e industriales, además de lixiviados de suelos, sedimentos o lodos (Bowers *et al.*, 1997) además los bioensayos de este tipo permiten evaluar la toxicidad de muestras con elevada turbiedad de manera directa y sin necesidad de filtración previa, reduciéndose las interferencias debidas al pre-tratamiento y simplificando el procedimiento de prueba.

Dentro de los ensayos de germinación se pueden distinguir 4 elementos principales en la planta que son evaluados:

a) Cotiledón: Hoja u hojas modificadas del embrión o plántula que contienen las reservas alimenticias almacenadas en la semilla. Estas son formadas en el primer nódulo o en el extremo superior del hipocotíleo (Bonner, 2006)

b) Epicotilo: En la Figura 3 se muestra esta sección del eje de embrión de una planta o tallo de una plántula la cual se encuentra ubicada entre los cotiledones y los brotes primarios.

c) Hipocotilo: Sección del eje embrionario que está entre los cotiledones y la radícula. En las plántulas el tallo juvenil está entre los cotiledones y el sistema radical (Bonner, 2006)

d) Radícula: Porción del eje de un embrión a partir del cual se desarrolla la raíz primaria (Figura 3).

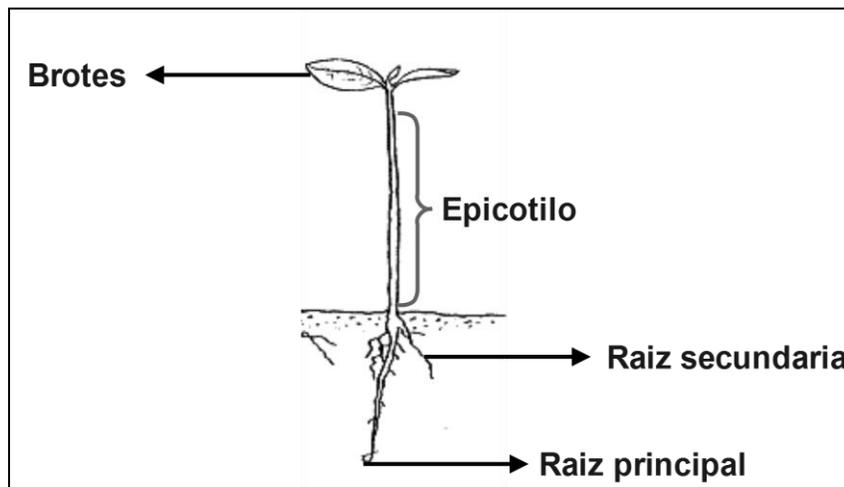


Figura 3. Esquema de elementos que componen la planta.

La ventaja que provee este tipo de ensayo es su bajo costo económico, pues se puede determinar como la calidad del agua o las concentraciones de ciertos tóxicos pueden afectar o inhibir el desarrollo o germinación de diversos cultivos a través de la medida del cotiledón, hipocotíleo y el porcentaje de germinación (Gutiérrez, 2016). La germinación es el proceso en el que, mediante absorción de agua, se produce la reactivación del metabolismo del individuo y la iniciación del crecimiento del embrión de una semilla (Bidwell, 1990).

Las especies más utilizadas dentro de las plantas superiores son, el rabanito (*Raphanus sativus*) y el trigo (*Triticum aestivum*) (Bamgbose y Anderson, 2015).

Triticum aestivum es una planta monocotiledónea de la familia de las gramíneas, posee raíces fasciculadas, su tallo es cilíndrico y ahuecado, además de poseer flor en espiga aplanada (Blasco-Zumeta, 2013). Su crecimiento es de tipo anual y se caracteriza por obtener el nitrógeno en forma de ion nitrato pero también en su forma amoniacal, aunque el déficit de este puede producir resequedad y pérdida de verdor en la planta, así como también su exceso puede desencadenar una mayor duración del estado vegetativo de esta. Por otro lado, *Raphanus sativus* es una planta dicotiledónea del conjunto de las hortalizas. Se caracteriza por ser moderadamente tolerante a la acidez y además posee sensibilidad hacia las

condiciones de salinidad del suelo, con alto contenido de materia orgánica (Cornejo, 2011). Emerge en periodos otoño-invernales.

Los bioensayos de germinación han sido utilizados para conocer la morfología de las semillas y los componentes de estas. Rodríguez *et al.* (2008), presentó distintas técnicas para evaluar parámetros de germinación, desarrollo y evolución para distintas especies y así poder conocer el potencial y valor de siembra. También se ha utilizado bioensayos de germinación para determinar el comportamiento y el funcionamiento de los distintos inhibidores de germinación presentes en la corteza de las semillas (Kato *et al.*, 2002).

Por otro lado, se han utilizado para evaluar técnicas de mejoramiento de desarrollo de las semillas. Así, Contreras *et al.* (2006), determinaron el efecto de las condiciones de temperatura necesarias para la correcta germinación (Contreras *et al.*, 2006). Mientras que Mohammadi y Mozafari (2012) demostraron como el cebado de las semillas permite observar una reducción considerable en los efectos de la salinidad del suelo en la germinación de las semillas. El proceso de cebado consiste en la inmersión de las semillas en algún tipo de sustancia a fin de condicionar la respuesta de esta (Mohammadi y Mozafari, 2012).

Los bioensayos de germinación también han demostrado ser útiles en la detección de contaminantes y la forma en que estos afectan a las distintas especies. Li *et al.* (2007) evaluaron el efecto del arsénico (As) en la germinación y crecimiento de la planta a nivel morfológico y de unidades funcionales, determinando como se obtenían variaciones a nivel de proteínas, enzimas, azúcares, ácidos y pigmentos. Un análisis de naturaleza similar fue desarrollado por Lamhamdi *et al.* (2010) para el plomo en su forma $Pb(NO_3)_2$. Este tipo de investigaciones genera modelos que podrían permitir la detección de compuestos naturales capaces de combatir los efectos de sustancias tóxicas como el plomo (Lamhamdi *et al.*, 2010). También se han estudiado metaloides solubles como Cu, Mn y Zn presentes en suelos saturados de asentamientos mineros para evaluar la toxicidad presente en el

(Bagur-González *et al.*, 2010). También se ha estudiado mediante bioensayos la toxicidad en cuerpos de agua sometidos a altas presiones, mayoritariamente descargas con alta concentración de metales en el canal este que desemboca en el mar de Mármara en Turquía (Askoy *et al.*, 2012). Para terminar también se han realizado bioensayos para nuevos contaminantes como lo son las drogas antiinflamatorias no-esteroidales (Schmidt y Redshaw, 2014). Se evaluó el crecimiento de las plantas que se ven expuestas al contacto con las descargas de aguas servidas tratadas a cuerpos de agua así como el reúso de lodos de tratamiento y de aguas servidas tratadas.

1.8.1.1 Bioensayos de germinación para evaluar el reúso

Los bioensayos han utilizado para determinar el potencial reúso en el riego. Para efluentes provenientes del proceso de molienda de olivos para la producción de aceite de oliva. Dicho proceso genera un residual que se compone de agua vegetal proveniente del fruto, agua de lavado, pulpa y aceite residual. La proporción general es 82-93% agua; 4-16% materia orgánica (100 g/L DBO₅ y 200 g/L DQO) y 1-2% minerales (Ben Sassi *et al.*, 2006). El reúso de este tipo de se encuentra limitado por la concentración de fenoles, el bajo pH (4-5) y la presencia de ácidos grasos tóxicos. Sin embargo, debido al contenido de minerales y de materia orgánica que posee, puede ser dispuesto en el suelo dependiendo de las condiciones que posea el terreno receptor (Ben Sassi *et al.*, 2006; Pareskeva *et al.*, 2007).

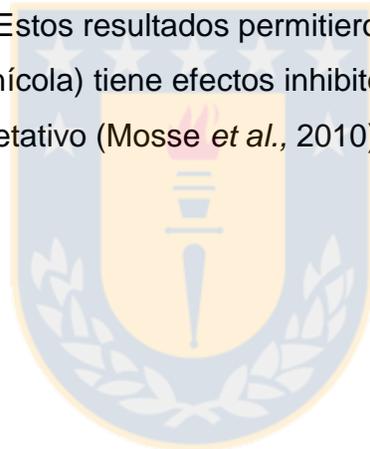
El trabajo de Ben Sassi *et al.*, (2006), pretendía evaluar el reúso del agua del proceso de molido de olivos para la producción de aceite comparando 3 procesos de molido de olivos (Prensa tradicional, prensa semi-moderna y de proceso continuo). Como resultado se obtuvo que el efluente residual de procesos continuos de molienda de olivos mostro en los ensayos, germinación efectiva en la concentración más baja (100% de germinación en la concentración 1/16). Esto indico que independiente de la tecnología y el grado de dilución del efluente, este

resulta tóxico para las plantas lo que no permite su reutilización en el riego. La no germinación se asoció a la alta concentración de fenoles y metales (Zn y Cu) producida por el bajo contenido de agua en el efluente (Ben Sassi *et al.*, 2006).

Por su parte, Pareskeva *et al.* (2007), propusieron el aprovechamiento del efluente del proceso de molienda de olivo, pero esta vez, sometido a tratamiento mediante separación física (ultra filtración, nano filtración y osmosis reversa). Uno de sus objetivos era contribuir a la implementación de tecnologías que permitiesen tratar el residual y obtener subproductos aprovechables, como son los polifenoles y grasas que además resultan ser tóxicos para la germinación de las plantas (Pareskeva *et al.*, 2007). El mencionado documento procura evaluar la toxicidad en las fracciones concentradas y permeables resultantes de los procesos físicos implementados (nanofiltración, ultrafiltración y/o osmosis reversa) obteniéndose, debido a la separación, que la fracción concentrada poseía potencial para la inhibición de la germinación (Pareskeva *et al.*, 2007). Por su parte las fracciones permeables presentaron condiciones óptimas para ser reutilizadas en el riego ya que el agua tenía un tono claro casi transparente, no generaba ningún tipo de olor y la concentración de fenoles era muy baja (reducción aprox. 99%, concentración entre 11,2 – 605 mg/L) (Pareskeva *et al.*, 2007).

También se han implementado bioensayos de germinación en el análisis del efecto del uso de aguas residuales de bodega (Industria vitivinícola) en la germinación y crecimiento de cultivos comunes con un potencial uso como cortina vegetal de un viñedo (Mosse *et al.*, 2010). En dicho proceso, por cada litro de vino producido se generan en promedio entre 1,6 y 2 litros de aguas residuales (Fernández *et al.*, 2007). Dicho residual posee una alta carga orgánica (DQO = 14600 mg/L), bajo pH (pH = 6) y alta salinidad (CE = 880 μ S/cm) lo que en suma aumenta el riesgo medioambiental (Mosse *et al.*, 2010). Dentro de los compuestos orgánicos presentes destacan azúcares, ácidos orgánicos (acético, tartárico y propiónico), ésteres y polifenoles. En cuanto a los compuestos inorgánicos

destacan los iones de potasio, magnesio, calcio y sodio. Entre los constituyentes, tanto orgánicos como inorgánicos, los que pueden inducir efecto tóxico son los polifenoles y los iones sodio (Na^+) (Malandra *et al.*, 2003). Para su estudio, Mosse *et al.* (2010), realizaron dos bioensayos, en un primer ensayo observó que si bien hubo germinación esta tardó en darse (aumento del tiempo de germinación entre 12 y 55%). Esta demora en el desarrollo de la plántula estuvo relacionada con el aumento de la concentración de la muestra, con un alto contenido en sales de sodio (Hidróxido de Sodio = 110mg/L; Tartrato sódico di-básico deshidratado = 350 mg/L y Citrato sódico tribásico deshidratado = 285 mg/L), es decir, a mayor concentración mayor tiempo de germinación. En un segundo ensayo, se obtuvo que el índice de germinación varió entre un 50 y 95% conforme se incrementó la concentración del residual. Estos resultados permitieron concluir que el residual de las bodegas (industria vitivinícola) tiene efectos inhibitorios tanto en la germinación como en el crecimiento vegetativo (Mosse *et al.*, 2010).



2 HIPÓTESIS

De acuerdo a los indicadores de toxicidad las aguas servidas tratadas mediante lodos activados poseen un mayor potencial de reúso en agricultura que las aguas servidas tratadas mediante humedales construidos.

3 OBJETIVOS

3.1. General:

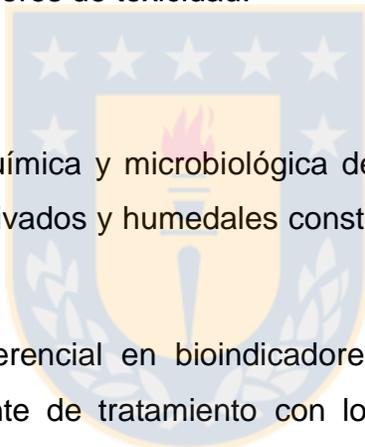
- Evaluar el potencial reúso de las aguas servidas en la agricultura tratadas mediante lodos activados y humedales construidos bajo distintos procesos de desinfección usando indicadores de toxicidad.

3.2. Específicos:

- Evaluar la calidad fisicoquímica y microbiológica de las aguas servidas rurales tratadas mediante lodos activados y humedales construidos sometidas a procesos de desinfección.

- Evaluar la respuesta diferencial en bioindicadores de toxicidad irrigados en placas con agua proveniente de tratamiento con lodos activados y humedales construidos.

- Evaluar la respuesta diferencial en bioindicadores de toxicidad irrigados en suelo con agua proveniente de tratamiento con lodos activados y humedales construidos.



4. METODOLOGIA

4.1. Proceso de tratamiento de agua.

4.1.1. Obtención del influente

Para llevar a cabo este estudio se utilizó la estación experimental de humedales construidos a escala piloto, localizada en la planta de tratamiento de aguas servidas (PTAS) de la comuna de Hualqui, provincia de Concepción, Región del Biobío (Chile), perteneciente a la Empresa de Servicios Sanitarios del Biobío ESSBIO.S.A. ($36^{\circ}59'26.93''$ de la latitud sur, y $72^{\circ}56'47.23''$ de longitud Oeste) (Figura 4).



Figura 4. Ubicación de la planta piloto de HFSSH en la PTAS de Hualqui ($36^{\circ}59'26.93''$ de la latitud Sur, y $72^{\circ}56'47.23''$ de longitud Oeste).

La planta piloto se alimentó con el influente de aguas servidas extraído desde la PTAS Hualqui, con una bomba para aguas negras marca Pedrollo modelo VXm8/35-I. Las aguas servidas se extrajeron a la salida del tratamiento preliminar,

luego de haber sido pre-tratadas por una cámara de rejillas (Separación de 40 mm) y un desarenador (López *et al.*, 2015).

Por su parte, el influente que alimenta el tratamiento biológico aeróbico de cultivo suspendido por lodos activados mediante aireación extendida, proviene de un tratamiento preliminar que se centra en la remoción de sólidos gruesos y arenas que pudieran generar problemas en etapas posteriores del tratamiento.

4.1.2. Unidades de tratamiento

4.1.2.1. Humedal Construido con flujo Subsuperficial horizontal.

La planta piloto de tratamiento con HFSSH cuenta en su sección inicial con sistema de tratamiento primario que se compone de tanque desarenador/desengrasador de 630 L, una fosa séptica de 1200 L y un tanque de 630 L, que actúa como pozo de bombeo, desde el que se entrega el influente a las 6 celdas de HFSSH. Las celdas que componen el HFSSH poseen un área de 4,5 m² cada una y un volumen aproximado de 1,52 m³. El medio de soporte asociado es gravilla de tamaño entre ¾" y 1". Posee un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 3 a 9 días. Dos de las celdas están plantadas con la especie de macrófitas *Phragmites australis*, dos están plantadas con la especie *Schoenoplectus californicus*, mientras que una celda se encuentra plantada con la especie *Cyperus papyrus* y la última celda cuenta con las especies *Cyperus papyrus* y *Zantedeschia aethiopica*.

4.1.2.2. Tratamiento biológico aeróbico de cultivo suspendido por lodos activados mediante aireación extendida

Esta unidad de tratamiento se divide en 3 secciones. Primero se encuentra el selector biológico, el cual es alimentado por la confluencia del efluente del tratamiento preliminar y la recirculación de lodos, y cuya finalidad es mitigar la aparición de bacterias filamentosas, lo que se logra mediante un tanque de base

circular de hormigón armado que además cuenta con dos sistemas de agitación. A continuación está el estanque de aireación, en el que se lleva a cabo la biodegradación de la materia orgánica, y que se compone de un dique excavado en tierra, impermeabilizado con geomembrana de Polietileno de alta densidad (HDPE por sus siglas en inglés) de 1,5 mm de espesor, rodeado por un muro perimetral de hormigón, un sistema de aireación por difusión, lo que evita la generación de aerosoles y ruidos molestos al entorno, y además 2 agitadores de eje horizontal. Finalmente, se encuentra el sedimentador secundario, que consta de una base circular de hormigón armado junto con un puente barredor de tracción perimetral que actúa tanto en los lodos de fondo como en las espumas superficiales.

4.2. Proceso de desinfección

4.2.1. Desinfección mediante el uso de Cloro

Para la realización de la desinfección por cloro, se utilizó un reactor batch (500 mL) con el efluente procedente de los HFSSH. El efluente será agitado (Agitador Magnético VELP Científica), para luego aplicar la solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) a 50 g/L, para obtener una dosis de cloración de 200 mg·min/L (Figura 5).

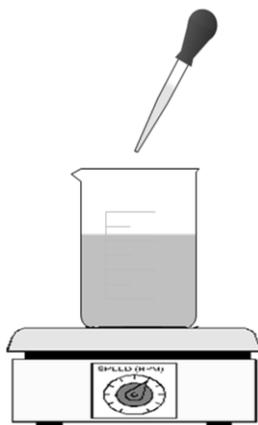


Figura 5. Sistema de desinfección con cloro (Acevedo, 2015)

De acuerdo a la dosis anterior, se obtuvieron efluentes con carga de patógenos menores a 2 NMP coliformes fecales/100mL, según lo determinado por Acevedo, (2015).

4.2.2. Desinfección mediante el uso de UV

Para el proceso de desinfección mediante UV se utilizó un sistema batch conformado por una cámara UV cerrada (Phillips home-Solaria). Las muestras fueron dispuestas en una placa Petri de vidrio (200 mL) al interior de dicha cámara. La irradiación fue aplicada por 4 lámparas UVC ($\lambda = 254 \text{ nm}$) de 8W (Phillips-TUV) a una distancia de 25 cm de la muestra para obtener una intensidad por tiempo de contacto de $12,5 \text{ mW} \cdot \text{min}/\text{cm}^2$ (Acevedo, 2015) (Figura 6).

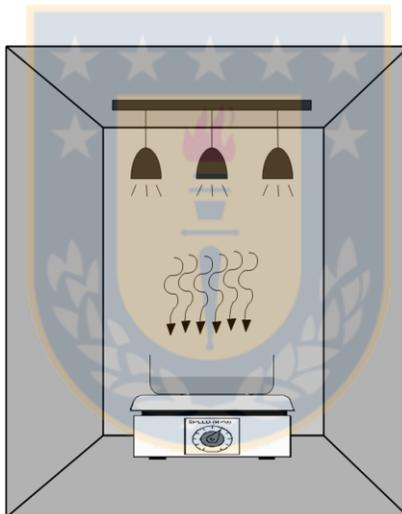


Figura 6. Sistema de desinfección con luz ultravioleta (Acevedo, 2015)

4.3. Bioensayos de toxicidad

4.3.1. Bioensayos en placas

Para los ensayos de germinación en placa se utilizaron semillas de *Raphanus sativus* y *Triticum aestivum* (Semillas corrientes desinfectadas, ANASAC Jardín) (Figura 7.). Se usaron 10 réplicas de cada especie. Las semillas fueron dispuestas en placas Petri (MiniPlast Ein-Shemer, 90x55 mm) con papel filtro (Whatman).

Cada placa fue irrigada con 5 ml de efluente (HFSSH-UV, HFSS-CI, Tratamiento de Lodos activados-UV y Tratamiento de Lodos activados-CI) en distintas diluciones (100%, 50%, 25%, 12,5% y 6,25%). Posteriormente, las placas fueron instaladas en una cámara de incubación a temperatura (22°C) y luz constante (fluorescente de 18 watts) durante un periodo de 144 horas (6 días). Se realizaron mediciones diarias asociadas a la germinación. Al final del ensayo (144 horas) se procedió al recuento final de individuos germinados (N°), además de la medición de la longitud radicular (cm) (Villamar *et al.*, 2015).



Figura 7. Semillas de a) *Raphanus sativus* y b) *Triticum aestivum*

4.3.2. Bioensayos en suelo

Los ensayos de germinación en suelo artificial consistieron en plantar muestras homogéneas (en peso y tamaño) de semillas de rabanito y trigo (*Raphanus sativus* y *Triticum aestivum*, respectivamente) en suelo artificial. La composición del suelo artificial corresponde a una proporción de 20 % de arcilla de caolín, 10 % de turba, 70 % de arena de acuerdo a Mancebo *et al.* (2008). Se utilizaron 300 g de suelo artificial en recipientes de plástico (PS-6) de un litro. En cada recipiente se sembraron 30 semillas (de cada especie) distribuidas segregadamente por

especie y se irrigaron con 100-200 mL de muestra (blanco y concentraciones 100%, 50%, 25%, 12,5% y 6,25%), para finalmente medir la germinación transcurridas 336 horas (14 días) (OECD, 1984). Al término del ensayo (336 horas) se procedió al conteo de ejemplares germinados (N°), la extracción de los individuos germinados para medición de longitud radicular y del epicotilo (cm).

4.4. Metodología para el análisis de datos

En base a las mediciones y conteos hechos se obtuvo un set de datos para cada tipo de semilla, cada tipo desinfección y cada tipo de tratamiento. El número de germinación total permitió obtener el porcentaje de inhibición de germinación (PGI) el cual se determinó en base a:

$$PGI = \frac{GC - GS}{GC} \times 100$$

Dónde, GC fue la germinación en el control y GS fue la germinación en la muestra. Por otro lado se puede determinar de elongación del epicotilo por medio de la siguiente ecuación:

$$PEE = \frac{EC - ES}{EC} \times 100$$

Donde, EC es la elongación detectada en el control y ES la elongación detectada en la muestra. Para ambos, un resultado positivo indica inhibición, tanto de la germinación como de la elongación del epicotilo, mientras que un resultado negativo indica que no se presentó inhibición.

En cuanto al índice de germinación (IG), este se determinó mediante la relación entre el porcentaje de germinación relativo (PGR) y el crecimiento de la radícula relativo (CRR) según la metodología descrita por Tiquia (2000).

$$IG = \frac{PGR \times CRR}{100}$$

Para determinar el porcentaje de germinación relativo se utilizó la siguiente ecuación:

$$PGR = \frac{NSGM}{NSGC} \times 100$$

Donde NSGM corresponde al número de semillas germinadas en la muestra y el NSGC es el número de semillas germinadas en el control. Para determinar el crecimiento relativo de la radícula se utilizó la siguiente ecuación:

$$CRR = \frac{ERM}{ERC} \times 100$$

Donde ERM es la elongación de la radícula en la muestras, mientras que el ERC es la elongación de la radícula en el control.

Para el IG, valores $\geq 80\%$ indicaron que no hay sustancias tóxicas o están en muy baja concentración; el $IG \leq 50\%$ es indicador de que hay una fuerte presencia de sustancias tóxicas y si se obtiene un valor entre 50% y 80% se interpretaría como la presencia moderada de estas sustancias (Zucconi *et al.*, 1981).

4.5. Métodos analíticos

4.5.1. Parámetros fisicoquímicos

- a) pH, temperatura y conductividad eléctrica: Se utilizó un medidor multiparametro portátil OAKTON (PC650–480485).
- b) Oxígeno Disuelto (OD): Para determinarlo se utilizó un equipo portátil (HANNA OXI 330i/set HI 9146-04).
- c) Demanda Química de Oxígeno (DQO): Será determinada mediante el método colorimétrico de reflujo cerrado 5220-D del Standard Methods (APHA, 2005) a 600 nm, a través del equipo Thermo Spectronic, modelo Genesys 10 UV, después de 2 horas de digestión a temperatura 150°C.

- d) Demanda Biológica de Oxígeno (DBO_5): Será determinada mediante la demanda biológica de oxígeno en 5 días (DBO_5) por medio de la metodología Winkler, luego de 5 días de incubación a 20°C.
- e) Sólidos Suspendedos Totales: Se determinaran a partir del método 2540-D del Standard Methods (APHA, 2005).
- f) Amonio ($N-NH_4^+$): Será determinado mediante el método del fenol ($4500-NH_4^+$) indicado en el Standard Methods (APHA, 2005) el cual será sometido a análisis absorbancia a 640 nm.
- g) Nitrógeno y Fósforo Totales: Se realizara la medición de sus concentraciones mediante kits específicos de Spectrocuant NOVA-60, de Merck. Para las concentraciones de NT se utilizara el kit de código 1.00613.0001 que detecta concentraciones entre 0,5 y 15,0 (mg N/l). Para determinar las concentraciones de PT se empleara el kit de código 1.14729.0001, que registra valores entre 0,5 y 25,0 (mg P/l).
- h) Cloro libre y Cloro total: Se midieron a través del método dietil-p-fenilendiamina (DPD) con ayuda de un colorímetro portátil marca HACH, modelo DR/890.

4.5.2. Patógenos

Los coliformes fecales y totales fueron determinados a través de la técnica de tubos múltiples mediante el número más probable (NMP), según lo indicado en el Standard Methods 9221-TC (APHA, 2005) y la Norma Chilena 2313/22 (Instituto de normalización, 1995). La técnica de NMP se compone de dos etapas. Una prueba presuntiva y una prueba confirmativa. En la prueba presuntiva se utilizan tubos de cultivo que en su interior contienen el medio de cultivo Lauril Sulfato Triptosa (LST) y una campana Durham. Para la prueba, se utilizan 15 tubos de cultivo por muestra, debido a que son 3 diluciones que constan de 5 réplicas por cada dilución. Antes de efectuar los cultivos, la botella con la muestra y las diluciones, deben ser agitadas vigorosamente. Posteriormente, las muestras se inoculan en cada tubo de acuerdo a las diluciones seleccionadas y se incuban a

una temperatura de 35 °C durante 24 - 48 horas. Después de 24 horas de incubación efectuar una primera lectura para observar si hay tubos positivos, lo que se determina por aparición de turbidez o producción de gas en la campana. Después de 48 ± 2 h a partir de la inoculación, se hace la lectura final. De los tubos que en esta lectura den positivos, se procede a hacer las pruebas confirmativas para coliformes totales y coliformes fecales. En la prueba confirmativa para coliformes totales, se toman desde los tubos positivos, una a dos asadas las que se depositan en tubos caldo Lactosa Bilis Verde Brillante (BVB). Luego, se incuban durante 48 ± 3 h a $35 \pm 0,5$ °C. Dentro de 48 ± 3 h constituye un ensayo confirmativo positivo. Para la prueba confirmativa de coliformes fecales, se toman desde los tubos positivos, una azada la que se deposita en tubos de fermentación con caldo EC. Se incuba en baño termoregulado durante 24 horas a $44 \pm 0,5$ °C, para luego observar presencia de turbidez y gas.



5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1. Caracterización de la calidad fisicoquímica y microbiológica de las aguas servidas rurales tratadas mediante LA y HFSSH sometidas a procesos de desinfección.

La Tabla 5 presenta la caracterización fisicoquímica y microbiológica del efluente de HFSSH el cual fue sometido a dos tipos de desinfección (cloración e irradiación UV).

Tabla 5. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del efluente de HFSSH sometido a cloración e irradiación UV.

Parámetros	Unidades	Sistema de tratamiento					
		HFSSH-CL			HFSSH-UV		
		Rango		Promedio	Rango		Promedio
		Mínimo	Máximo		Mínimo	Máximo	
DQO	(mg/L)	129,36	150,19	142,56 ± 11,48	131,89	170,70	148,40 ± 20,04
DBO ₅	(mg/L)	21,00	27,00	24,00 ± 4,24	24,00	30,00	27,00 ± 4,24
NT	(mg/L)	73,00	79,00	77,00 ± 3,46	74,00	94,00	83,33 ± 10,07
N-NO ₃ ⁻	(mg/L)	<L/D	<L/D	<L/D	<L/D	<L/D	<L/D
N-NH ₄ ⁺	(mg/L)	4,26	73,02	47,46 ± 37,62	62,60	89,10	75,81 ± 13,25
NTK	(mg/L)	16,11	96,43	64,62 ± 42,68	83,22	99,46	91,34 ± 11,48
PT	(mg/L)	11,50	13,10	12,40 ± 0,82	11,50	14,30	13,00 ± 1,41
P-PO ₄	(mg/L)	4,42	12,87	9,80 ± 4,68	8,75	13,01	10,87 ± 2,13
SST	(mg/L)	1,00	25,25	10,64 ± 12,87	4,86	17,69	11,60 ± 6,44
SSV	(mg/L)	1,00	25,25	10,64 ± 12,87	4,86	17,69	11,60 ± 6,44
CF	(NMP/100mL)	<L/D	<L/D	<L/D	<L/D	<L/D	<L/D
Cloro Libre	(mg/L)	0,96	3,24	2,15 ± 1,14	N/D	N/D	N/D
Cloro Total	(mg/L)	2,98	4,72	3,69 ± 0,91	N/D	N/D	N/D
Conductividad	(µs/cm)	1251,00	1306,00	1278,50 ± 38,89	1224,00	1321,00	1272,50 ± 68,59
pH		7,81	8,72	8,27 ± 0,64	7,69	8,23	7,96 ± 0,38
OD	(mg/L)	6,90	7,70	7,30 ± 0,57	5,70	6,60	6,15 ± 0,64
Temperatura	(°C)	0,03	19,90	9,61 ± 9,96	0,02	19,90	9,61 ± 9,96

<L/D: Bajo el límite de detección; N/D: No determinado.

En lo que respecta a la materia orgánica, se evidencio que la DBO₅, vario en promedio un 13%, y las concentraciones fluctuaron entre 24,00 ± 4,24 mg/L (HFSSH-Cl) y 27,00 ± 4,24 mg/L (HFSSH-UV).

Las concentraciones de DBO₅ fueron superiores (20% y 35% para HFSSH-Cl y HFSSH-UV, respectivamente) a las descritas por García et al. (2004) y Brix et al. (2007) (< 20 mg/L) quienes describieron el tratamiento secundario con HFSSH, luego de someter los influentes a procesos de filtrado y sedimentación; y dentro de los rangos obtenidos por Vera et al. 2011 (10,0 – 55,0 mg/L).

Mientras que la DQO presentó una variación menor a un 4% entre los distintos mecanismos de desinfección aplicados. Las concentraciones de DQO fueron en promedio 142,56 ± 11,48 mg/L (HFSSH-Cl) y 148,40 ± 20,04 mg/L (HFSSH-UV). Dichas concentraciones difieren entre un 7,2% y un 11,6%, respectivamente con las descritas por Vymazal (2000), para los que se presenta una variación de 35,7-133 mg/L.

Por su parte, los sólidos suspendidos totales de las muestras obtenidas en los humedales para ambos tipos de desinfección, presentan una variación promedio en las concentraciones de un 9% (10,64 ± 12,87 mg/L para HFSSH-Cl y 11,60 ± 6,44 mg/L para HFSSH-UV). Dichas concentraciones se encuentran dentro de los limites descritos por Vymazal *et al.*, 2008 (< 20 mg/L).

En lo que respecta a nutrientes, desde la Tabla 5 se extrae que la mayor variación entre los tipos de desinfección para sistemas de HFSSH se evidenció para el N-NH₄⁺ (60%) y N-NTK (41%). Además, menores concentraciones de N-NH₄⁺ en la muestra desinfectada con cloro (47,76 ± 37,2 mg/L) pueden estar dadas por la formación de cloraminas producto de la reacción entre el nitrógeno amoniacal y el HOCl (ácido hipocloroso) el cual desencadena la formación de monoclaminas (NH₂Cl) las cuales se forman a una tasa equivalente a un promedio de 0,15 mol de cloraminas orgánicas producidas por mol de cloro utilizado. Sucesivamente por acción de HOCl pasan a dicloraminas (NHCl₂) para luego formar tricloruro de

nitrógeno (Lee y Westerhoff, 2009). A pesar de dicha variación ambos concentraciones de $N-NH_4^+$ se encuentran dentro del intervalo 40 -100 mg/L descrito por Rojas et al. (2013).

Por su parte, las concentraciones detectadas de $N-NO_3^-$ no superaron el límite de detección (<0,5 mg/L). Esto se debe a que el proceso de nitrificación, por medio del cual se forma el nitrato, no se lleva a cabo debido a las condiciones anaeróbicas (potencial redox <300 mV) del sistema debido a la falta de oxígeno en el lecho de filtración como consecuencia de las condiciones de inundación permanente (Vymazal, 2007).

En cuanto al fósforo, mantuvo concentraciones similares en las distintas muestras con una variación de un 5% (fósforo Total). Las concentraciones de fósforo total obtenidas son cercanas (HFSSH-Cl: 12,4 mg/L; HFSSH-UV: 13,0 mg/L) a los rangos reportados en otras investigaciones (1,5-9,3 mg/L) (Zhang *et al.*, 2014; Ahmed *et al.*, 2008). El fósforo fue detectado en un 79% para HFSSH-Cl y un 83% para HFSSH-UV en la forma $P-PO_4$, con respecto a PT, presentando variaciones máximas en promedio entre los distintos mecanismos de desinfección de un 10%. A su vez, las concentraciones de $P-PO_4$ presentaron una variación entre un 35% y un 28% (HFSSH-Cl: 9,80 mg/L; HFSSH-UV: 10,87 mg/L) a las concentraciones descritas por Nyakang'o y van Bruggen (1999) (15 mg/L). Finalmente, ambos mecanismos de desinfección, tanto irradiación UV como cloración, lograron la desinfección del efluente, no presentándose resultados positivos en la prueba presuntiva de la técnica para la determinación de coliformes totales (<1,8 NMP/100 mL).

La Tabla 6 presenta la caracterización para el efluente de tratamiento convencional (Lodos Activados con aireación extendida) sometido a mecanismos de desinfección (Cloración e Irradiación UV).

Las concentraciones obtenidas de materia orgánica presentan diferencias de un 28% en la DQO entre LA-CL (79,35 ± 2,90 mg/L) y LA-UV (81.01 ± 5,05 mg/L).

Esta variación puede atribuirse al efecto oxidante del agente desinfectante (NaOCl o cloro comercial) el cual ha reportado reducciones en la DQO que varían entre un 33-55% (Aslam *et al.*, 2004). Dichas concentraciones además varían entre un 20 a un 30% (19-63 mg/L) respecto al rango descrito por Helmreich *et al.* (2000) para sistemas de tratamiento de reactores discontinuos con lodos activados con cargas de DQO en influente entre 300-750 mg/L para poblaciones de entre 400 a 2500 habitantes.

Tabla 6. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del efluente de tratamiento con lodos activados sometido a cloración e irradiación UV.

Parámetros	Unidades	Sistema de tratamiento					
		LA-CL			LA-UV		
		Rango		Promedio	Rango		Promedio
	Mínimo	Máximo		Mínimo	Máximo		
DQO	(mg/L)	77,30	81,40	79,35 ± 2,90	77,45	84,56	81,01 ± 5,05
DBO ₅	(mg/L)	5,00	54,00	24,67 ± 25,89	5,00	51,00	23,67 ± 24,19
NT	(mg/L)	3,90	15,40	7,87 ± 6,53	4,00	15,50	8,20 ± 6,35
N-NO ₃ ⁻	(mg/L)	0,40	2,50	1,20 ± 1,14	0,90	2,10	1,33 ± 0,67
N-NH ₄ ⁺	(mg/L)	1,12	8,45	4,18 ± 7,24	0,92	7,07	3,54 ± 6,03
NTK	(mg/L)	0,17	13,10	4,76 ± 3,81	0,42	11,62	4,72 ± 3,17
PT	(mg/L)	5,10	7,10	6,30 ± 1,06	5,10	6,80	6,20 ± 0,95
P-PO ₄	(mg/L)	3,26	6,49	4,73 ± 1,64	3,08	6,66	5,01 ± 1,81
SST	(mg/L)	4,10	9,68	6,19 ± 3,04	2,97	11,38	6,31 ± 4,46
SSV	(mg/L)	4,10	9,68	6,19 ± 3,04	2,97	11,38	6,31 ± 4,46
Coliformes fecales	(NMP/100 mL)	<L/D	<L/D	<L/D	<L/D	<L/D	<L/D
Cloro Libre	(mg/L)	3,60	5,08	4,20 ± 0,78	N/D	N/D	N/D
Cloro Total	(mg/L)	5,20	11,80	8,63 ± 3,31	N/D	N/D	N/D
Conductividad	(µs/cm)	639,10	703,40	671,2 ± 45,47	603,10	687,80	645,4 ± 59,89
pH		7,33	7,67	7,50 ± 0,24	7,16	7,64	7,40 ± 0,34
OD	(mg/L)	7,19	7,50	7,35 ± 0,22	7,13	7,20	7,17 ± 0,05
Temperatura	(°C)	7,20	19,40	13,30 ± 8,63	7,30	20,20	13,75 ± 9,12

<L/D: Bajo límite de detección; N/D: No determinado

La variación entre las concentraciones para DBO_5 en las muestras LA-Cl y LA-UV fueron menores al 4%. Dichas concentraciones mostraron variaciones de un 25% con respecto a los intervalos descritos por López *et al.* (2006) (6-18 mg/L).

Por otra parte, en los SST existe una baja variación (2%) entre las concentraciones de LA-Cl y LA-UV. Al igual que en los HFSSH, los sólidos suspendidos volátiles corresponden a la totalidad de los SST ($6,19 \pm 3,04$ y $6,31 \pm 4,46$ mg/L para LA-Cl y LA-UV, respectivamente). Estudios indican que la eliminación de SST para la tecnología de lodos activados alcanza eficiencias de entre un 70-90% obteniéndose concentraciones que se encuentran entre 4,56-47,12 mg/L y dicha eliminación se lleva a cabo en la etapa de sedimentación de los lodos (Sharafi *et al.*, 2012; Sukumaran *et al.*, 2015). Las eficiencias de eliminación para SST, se encuentran determinadas por las características del influente a tratar (concentraciones) y las características de funcionamiento de la planta, como tiempos de retención, edad del lodo y eficiencia en la floculación sedimentación del lodo (Sharafi *et al.*, 2012).

Respecto a los nutrientes, las concentraciones detectadas de nitrógeno, en sus distintas formas (NT, N-NO_3^- , N-NH_4^+ , NTK), varían entre un 1 y un 18%, entre LA-UV y LA-Cl. La variación más alta (18%) se observó para N-NTK donde se obtuvieron concentraciones de $4,18 \pm 3,81$ y $3,54 \pm 3,17$ mg/L para LA-Cl y LA-UV, respectivamente. Las concentraciones de nitrógeno obtenidas en esta investigación se encuentran dentro de los rangos descritos por Carey y Migliaccio (2009) (NT: 15-35 mg/L; N-NH_4^+ : 1-10 mg/L) para el efluente de un tratamiento de lodos activados con sistema de remoción de nutrientes por nitrificación. Por otro lado, las concentraciones de fósforo total detectada se encuentra (para ambas muestras) dentro del rango 1-10 mg/L descrito por Carey y Migliaccio (2009). Por su parte, el fósforo se encuentra en la forma P-PO_4 , en un 75 y 80% para LA-Cl y LA-UV, respectivamente.

En cuanto a la comparación de las dos tecnologías de tratamiento (HFSSH y LA) descritas en la Tabla 5 y Tabla 6, se observa que las mayores diferencias entre las concentraciones de los efluentes HFSSH y LA, se dieron a nivel de eliminación de nutrientes (NT, N-NO₃⁻, NTK, N-NH₄⁺, PT y P-PO₄), con variaciones que oscilan entre un 50-95%. Para los lodos activados se han establecido eficiencias entre un 20-25 % para NT (Adonadaga, 2014), mientras que para HFSSH existen registros de eficiencias entre 10-70% (Zhang *et al.*, 2014). Una menor eficiencia de eliminación de nitrógeno en el HFSSH pudo deberse a las condiciones anaeróbicas del sistema (potencial redox <300 mV), las cuales no permiten que se lleve a cabo la nitrificación, proceso esencial en la eliminación de nitrógeno (Vymazal, 2005). Por su parte, las menores concentraciones de nitrógeno detectadas en el efluente LA (para ambos procesos de desinfección) puede explicarse basándose en que a temperaturas cálidas (20-30°C) existe una mayor eficiencia en la eliminación de nutrientes (90% para NTK y N-NH₄⁺), debido a un aumento en la actividad microbiana con la temperatura (Tandukar *et al.*, 2007), lo que concuerda con las mediciones de temperatura promedio para el intervalo Noviembre-Enero, en la zona de muestreo. Otro factor que puede influir en las eficiencias de eliminación son las características de las aguas servidas. Mara y Horan, (2003) determinaron que este factor puede variar las concentraciones entre 60-80%, debido a que las aguas servidas domesticas están sometidas a variaciones tanto en el flujo como también en las concentraciones de materia orgánica (500-1600 mg/L) y nutrientes (NT: 39-84 mg/L; PT: 2-14 mg/L) (Oliveira, 2006). Sin embargo, las tecnologías utilizadas fueron alimentadas por un mismo influente, razón por la cual, las eficiencias de eliminación logradas se encuentran mayormente relacionadas con la operación y no con las características del influente.

A nivel microbiológico, se observa (Tabla 5. y Tabla 6.) que se logró la inactivación de los agentes patógenos con una reducción de los coliformes fecales a concentraciones inferiores a 1,8 NMP/100mL. Dichos resultados, presentaron

diferencias respecto a los resultados obtenidos por Acevedo (2015) quien utilizó una dosis de 200 mg·min/L de Cloro comercial, obteniendo 2 NMP/100 mL; y 12,5 mW·min/cm² de intensidad por tiempo de contacto de exposición UV, obteniendo 7,8 NMP/100 mL, ambas aplicadas a un efluente de HFSSH. Las diferencias entre los resultados obtenidos en esta investigación y los de Acevedo (2015) (10% y 76% de diferencia para desinfección por cloración e irradiación UV, respectivamente) pueden estar dadas por las características variables del influente del humedal, los episodios de rebrote de agentes patógenos que pueden darse en el humedal y las actividades de animales (Wu *et al.*, 2016). Además, la eliminación puede verse afectada con parámetros operacionales como el tiempo de retención hidráulico, pues se ha establecido que en algunos casos en intervalos de 48 horas se han generado rebrotes de patógenos; la vegetación y la variación estacional, pues la temperatura y la intensidad solar inciden en el comportamiento bacteriano (Wu *et al.*, 2016). Relacionado con estas variables se han descrito eficiencias de eliminación para patógenos entre 65-99% con la configuración HFSSH (Weber y Legge, 2008).

Por su parte, la desinfección por parte de LA-CL también fue efectiva (Tabla 5 y Tabla 6), es decir, no se detectaron concentraciones de coliformes. Lo anterior, concuerda con las eficiencias asociadas al desinfectante descritas por Farooq *et al.* (2007) (~99%), con concentraciones de salida de coliformes fecales e un rango de 1,1-23,0 NMP/100 mL, para un efluente desinfectado con concentraciones de cloro residual entre 0,1-2,1 mg/L. Por otro lado, en cuanto a la inactivación de patógenos por irradiación UV, esta fue igualmente efectiva que la cloración antes mencionada. Dichos resultados si bien concuerdan con otras investigaciones (Mezzanotte *et al.*, 2007), en las que se alcanzaron eficiencias de casi un 100% a intensidades similares (10-20 mW·min/cm²), sin embargo, esta puede ser una sobre estimación de la efectividad de los mecanismos de desinfección utilizados debido a las bajas concentraciones de patógenos en los influentes tratados (Dizer *et al.*, 1993). Esta reducción en la concentración de patógenos puede estar dada

por el aporte de los sistemas de lodos activados en la eliminación de patógenos la cual se lleva acabo principalmente por adsorción en el lodo activado y posteriormente por precipitación en la etapa de sedimentación de los lodos (Omura *et al.*, 1989; Tapia, 2012).

5.1.1. Comparación de la caracterización de efluentes HFSSH y LA, respecto a la bibliografía relacionada al reúso de aguas servidas tratadas.

Considerando los resultados obtenidos de las caracterizaciones, fisicoquímicas como microbiológicas, presentados en la Tabla 5 y Tabla 6, se pudo realizar una comparación entre las concentraciones presentes y las descritas por distintas normativas como adecuadas para aguas utilizables en reúso agrícola.

En la Tabla 7 se describen los valores presentados por la U.S. EPA (2012a) para reúso en el riego de cultivos.

Tabla 7. Características de la calidad del agua para diferentes opciones de reúso en riego agrícola

Categoría de reúso	Características del agua
Cultivos consumibles de manera directa	pH = 6,0 - 9,0 DBO ₅ ≤ 10 mg/L Turbidez ≤ 2 NTU Coliformes fecales no detectables Cloro residual = 1 mg/L
Cultivo consumibles procesados y cultivos no consumibles	pH = 6,0 - 9,0 DBO ₅ ≤ 30 mg/L SST ≤ 30 mg/L Coliformes fecales ≤ 200 coliformes/100 mL Cloro residual = 1 mg/L

Adaptado de U.S.EPA (2012a)

En base a lo expuesto en la Tabla 7, considerando los datos de la Tabla 5 podemos afirmar que ambos efluentes (HFSSH-CI y HFSSH-UV) pueden ser utilizados en para el riego de cultivos que se consumen procesados o que no se consumen. Esto se debe a que, si bien el pH se encuentra en el rango 6.0-9.0, la DBO₅ (24,00 mg/L y 27,00 mg/L para HFSSH-CI y HFSSH-UV, respectivamente) se encuentra por sobre el límite que se describe para la primera categoría de reúso (≤ 10 mg/L). En el caso de los Coliformes, no se puede indicar que los resultados obtenidos entren en la categoría de no detectables indicada en la tabla 7 pues el límite de detección del método utilizado para determinar la presencia de Coliformes fecales es 1,8 NMP/100mL lo que solo nos permite afirmar que la concentración de coliformes es inferior a este valor (APHA *et al.*, 1998).

Solo el cloro residual excede los requisitos para un potencial reúso del efluente, debido a que el valor obtenido (2,15 mg/L) es un 115% superior al indicado por U.S.EPA (2012a) (1 mg/L). En altas concentraciones (>100 mg/L) se ha evidenciado que el cloro libre puede ser tóxico para las plantas, reduciendo su crecimiento (reducción de elongación de epicotilo de un 50%) e incluso puede resultar letal para la planta dependiendo en su sensibilidad a la actividad iónica (Ibrahim *et al.*, 2015). Esta concentración puede reducirse utilizando una menor concentración de desinfectante o bien implementando sistemas de dechloración (EPA, 1999). Este problema no se ve en el efluente desinfectado mediante irradiación UV, en cual las concentraciones obtenidas también lo hacen apto para el reúso en cultivos que se consumen procesados o que no se consumen. Debido a que la mayoría de bacterias y levaduras son capaces de reparar daños UV en sus ácidos nucleicos (Sommer *et al.*, 2000), la principal preocupación asociada al

uso de irradiación UV es la reparación o reactivación de los microorganismos conocida como fotoreactivación o bien si se da en condiciones de oscuridad “reparación oscura” (EPA, 1999). En cuanto a la fotoreactivación, se ha indicado que a tiempos de exposición lumínica de 120 minutos se logra una reducción de la efectividad de la inactivación de patógenos del orden de 3 unidades logarítmicas (Sommer *et al.*, 2000), desde una eficiencia inicial de 6 unidades logarítmicas, logradas mediante la aplicación de irradiación UV con intensidades que oscilaron entre los 12 J/m² y 125 J/m². Para la reparación oscura, no se obtuvieron resultados de reactivación luego de 48 horas de oscuridad (Sommer *et al.*, 2000).

De igual modo, las características de los efluentes descritos en la Tabla 6 cumplen con la categoría de reúso en cultivos consumibles procesados y no consumibles. Sin embargo, la muestra LA-CI presentó una concentración de cloro (4,20 mg/L) que supera en un 300% la concentración de cloro permitida (Tabla 7).

A nivel nacional, si bien, se carece de una normativa netamente enfocada en el reúso, se tiene la Norma Chilena 1333, la cual especifica requisitos de la calidad del agua para diferentes usos y que para el caso del riego se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8. Características de calidad de agua para uso en riego agrícola

Parámetro	Valor
pH	5,5 - 9,0
Conductividad	≤ 750 μS/cm
Sólidos suspendidos	≤ 500 mg/L
Coliformes fecales	≤ 1000 NMP / 100 mL

Adaptado de Norma Chilena 1333. INN (1978).

Para el efluente de HFSSH (Tabla 5), se observa que se supera en un 70% el indicador de conductividad (1278,50 ± 38,89 para HFSSH-CI y 1272,50 ± 68,59 para HFSSH-UV) por lo que se considera que el efluente puede tener efectos perjudiciales en plantas sensibles (conductividades mayores a 750 μS/cm) (INN,

1978). La conductividad es indicador de la salinidad de las aguas. Un problema relacionado con la salinidad se produce cuando se genera un aumento en la salinidad de los suelos, lo que produce reducciones en la germinación y el desarrollo de las especies regadas (Marchese *et al.*, 2008). De acuerdo a Abrol *et al.* (1988), la utilización de agua con conductividades superiores a 2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ mediante riego por goteo generó un aumento en la conductividad del suelo de 6000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (100 días desde la siembra), lo que afectó el desarrollo y productividad de los cultivos adversamente (Abrol *et al.*, 1988); a nivel de brotes se observó una reducción en el peso seco de entre 25-30% (100 días después de la siembra); mientras que a nivel de fruto el peso seco de este se redujo en casi 0,5 g (100 días después de la siembra) (Marchese *et al.*, 2008). No obstante, bajas concentraciones pueden afectar la capacidad de infiltración de los terrenos por lo que se hace importante que la salinidad este en equilibrio (Grattan, 2002).

Por su parte, el efluente de tratamiento secundario con lodos activados (Tabla 6), para los parámetros indicados presento resultados de 7,50; 671,25 $\mu\text{S}/\text{cm}$; 6,19 mg/L para LA-Cl y 7,40; 645,45 $\mu\text{S}/\text{cm}$; 6,31 mg/L para LA-UV (pH, Conductividad y SST, respectivamente) lo que nos indica que dichos efluentes sí podrían ser utilizados en el riego. Sin embargo, esta comparación es solo teórica pues como ya se mencionó, en nuestro país no existe normativa asociada al reusó.

5.2. Evaluación de la respuesta diferencial en bioindicadores de toxicidad irrigados en placas proveniente de LA y HFSSH, sometida a procesos de desinfección.

5.2.1. Parámetros morfológicos

La Figura 8, muestra el crecimiento del epicotilo para el bioensayo realizado en placas utilizando la especie *Raphanus Sativus* para las distintas muestras de efluente.

El crecimiento del epicotilo observado en las placas irrigadas con efluente de LA-UV y LA-Cl presento un aumento directamente proporcional a la concentración del efluente aplicado (Figura 8a y 8b). Si bien los promedios de crecimiento de epicotilo a la máxima concentración para ambos efluentes (LA-UV y LA-Cl) fueron mayores (36-57%, respectivamente), respecto al control (1,66 cm), no existió una variación significativa en las distintas concentraciones con respecto al control ($p > 0,05$).

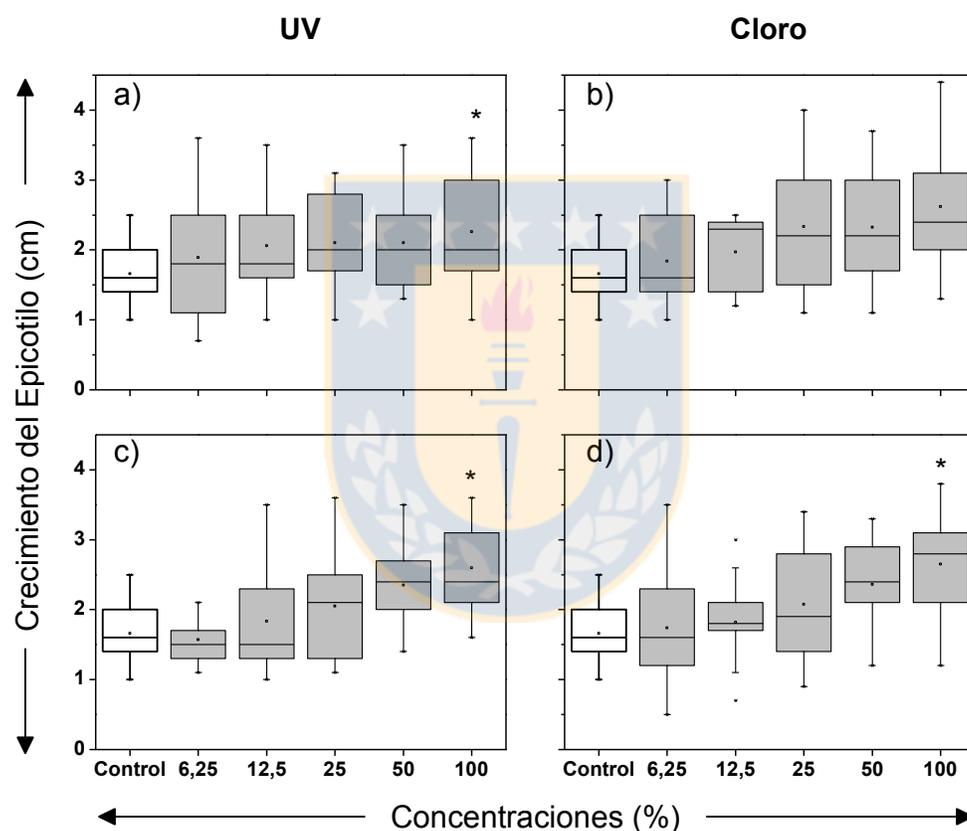


Figura 8. Crecimiento del epicotilo para *Raphanus Sativus* irrigado en placas con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.

Las semillas irrigadas con la muestra LA-Cl (concentración 100 %) alcanzaron un valor promedio de 2,62 cm, 16% superior al registrado para la muestra

desinfectada por irradiación UV (2,26 cm) a igual concentración. Esta diferencia puede relacionarse con la presencia de cloro. Debido a que este agente oxidante afecta las comunidades microbianas presentes en la semilla que actúan como inhibidores tanto de la germinación y crecimiento (Hong *et al.*, 2003). Ibrahim *et al.* (2015), describió un crecimiento superior (9-12%) al control en el epicotilo a bajas concentraciones de cloro libre (0,5-1,0 mg/L).

Los resultados obtenidos en las placas irrigadas con el efluente de HFSSH (Figura 8c y 8d) presentaron variaciones significativas ($p < 0,05$) entre las especies irrigadas con la concentración 6,25% (HFSSH-UV= 1.5 cm; HFSSH-Cl= 1.7 cm) y las irrigadas a la concentración 100% (HFSSH-UV= 2.6 cm; HFSSH-Cl= 2.7). Dichas variaciones fueron de un 73% en la muestra HFSSH-UV y 59% en la muestra HFSSH-Cl. Este incremento en el desarrollo sugiere que la especie *Raphanus sativus* experimentó una respuesta positiva al aporte de $N-NH_4^+$ presente. Esto concuerda con lo descrito por autores que han indicado que un aporte de $N-NH_4^+$ en concentraciones en el rango de 18,04-90,2 mg/L, pueden generar aumentos en el crecimiento entre 0,8-2,2 cm (Andriolo *et al.*, 2006; Jampeetong *et al.*, 2009).

La Figura 9, muestra el crecimiento de la raíz para *Raphanus Sativus* en placas irrigadas con los efluentes LA y HFSSH bajo distintos mecanismos de desinfección. Las placas irrigadas con el efluente de tratamiento con LA (Figura 9a. y 9b.) mostraron un comportamiento distinto en el crecimiento de la raíz observándose variaciones significativas con respecto al control (5.9 cm) solo a la concentración 6,25% de LA-UV aplicada ($p < 0,05$). Para la muestra LA-UV (Figura 9a.) se observó una tendencia al incremento de tamaño proporcional al aumento de la concentración (4,6 a 6,4 cm promedio). Sin embargo, en la concentración más alta (100%) se produjo una disminución (26%) en la elongación de la raíz alcanzando 4,75 cm promedio. Por su parte, para la muestra LA-Cl (Figura 9b) se observaron crecimientos mayores (7,47 cm) a la concentración 6,25%. Rehman y Bhatti (2009) describieron que el tamaño de raíz aumenta un 45% (variación de

1,2 cm) al irrigar semillas con efluente con DQO cercana a 50 mg/L para *Raphanus Sativus* pero este fenómeno tiende a decrecer a concentraciones cercanas 180 mg/L alcanzando diferencias de un 32% (variación de 0,9 cm), sin que se generen crecimientos inferiores al control (Rehman y Bhatti, 2009), a pesar de que se considera que concentraciones de DQO superiores a 150 mg/L pueden inhibir el desarrollo de las plantas (CPP, 1999).

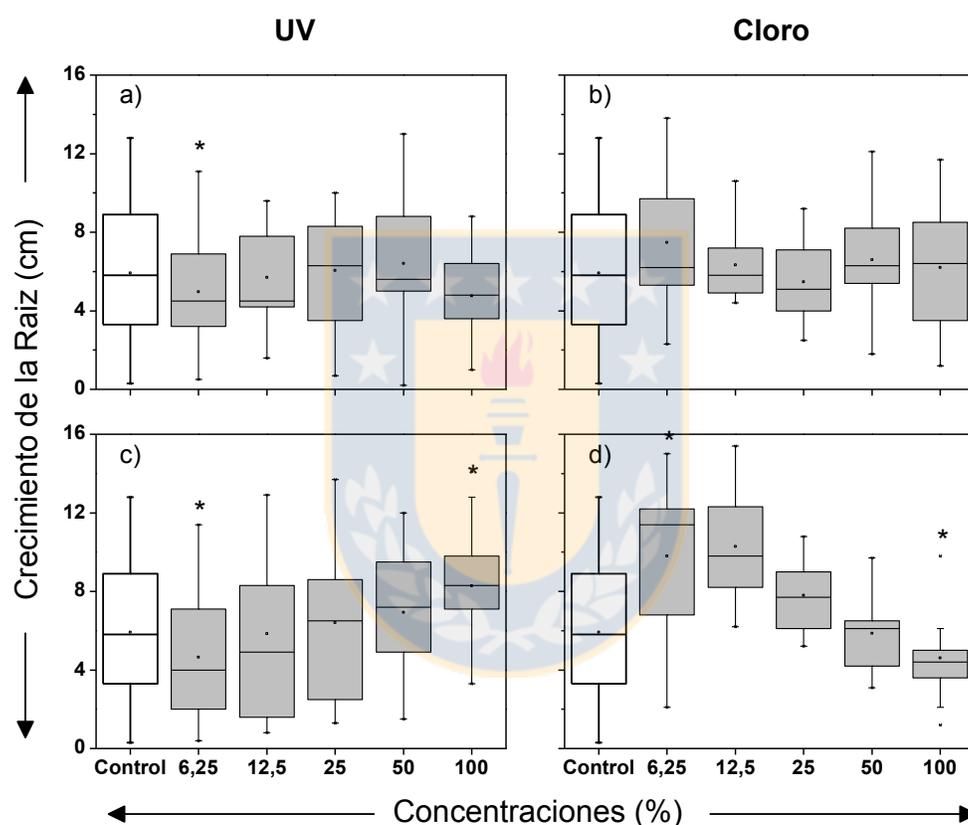


Figura 9. Crecimiento de la raíz para *Raphanus Sativus* irrigado en placas con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl

Las semillas irrigadas con efluente de HFSSH también presentaron un crecimiento de la raíz según el mecanismo de desinfección aplicado. Para HFSSH-UV (Figura 9c.), si bien en las concentraciones 6,25% y 12,5%, la variación respecto al control (5,10 cm) fue inferior al 15%, dicha variación aumentó entre 25-63% conforme

aumento la concentración, alcanzando un valor promedio para la concentración más alta (100%) de 8,3 cm. Lo anterior, puede estar relacionado a la disponibilidad de nitrógeno en forma de amonio (HFSSH-UV= 75.81 mg/L; HFSSH-CI= 47.46 mg/L, concentraciones de N-NH₄⁺) en este efluente (Tabla 5), el que, al encontrarse en forma de amonio es fácilmente asimilable por algunas plantas (Miller y Cramer, 2005). En el caso de la muestra HFSSH-CI (Figura 9d.), las semillas presentaron crecimientos significativamente superiores (66-74%) al control en las concentraciones 6,25% y 12,5% ($p < 0,05$). Por su parte, para las concentraciones 50% y 100%, las variaciones en el crecimiento de la raíz no superaron el 15%. Ibrahim *et al.* (2015), describe que a concentraciones de cloro entre 1,5-2,0 mg/L, la elongación de la raíz se redujo entre un 25-45%. Esto puede deberse a que, así como el cloro inhibe el crecimiento en los cultivos también puede tener un efecto en los microorganismos que potencia la germinación y desarrollo. Dichos microorganismos se conocen como biofertilizantes, los que actúan colonizando la rizosfera o el interior de las plantas y promueven el crecimiento mediante el incremento de suministro o la disponibilidad de nutrientes primarios para la planta huésped (Vessey, 2003). Dentro de las capacidades de estas bacterias, se encuentran, el potenciamiento de la fijación biológica de N₂, la solubilización de fosfatos y el incremento del área de contacto a nivel de raíces (Vessey, 2003). Ejemplo de este tipo de bacterias es la cepa *Azospirillum brasilense* cuyo efecto en la raíz ha reportado incrementos del orden de 10 veces el tamaño de la raíz con respecto al control (Molla *et al.*, 2001)

La Figura 10, presenta el crecimiento del epicotilo observado en el bioensayo en placas realizado irrigando semillas de la especie *Triticum aestivum*. El tamaño del epicotilo de las semillas de *Triticum aestivum* irrigadas con el efluente de lodos activados (LA-UV y LA-CI) oscilaron en promedio, entre 1.1 y 2.4 cm. Para la muestra LA-UV (Figura 10a.), en las concentraciones 6,25% (2,0 cm), 50% (2,1 cm) y 100%(2,0 cm), se observaron crecimientos superiores a la media del control (1,94 cm). Sin embargo, esta variación no fue significativa obteniéndose una

diferencia de un 8% ($p > 0,05$). Por su parte, en las concentraciones que se observó un crecimiento inferior a la media (12,5% y 25%), la variación no superó el 4% ($p > 0,05$) con mediciones de 1,9 cm para ambas concentraciones

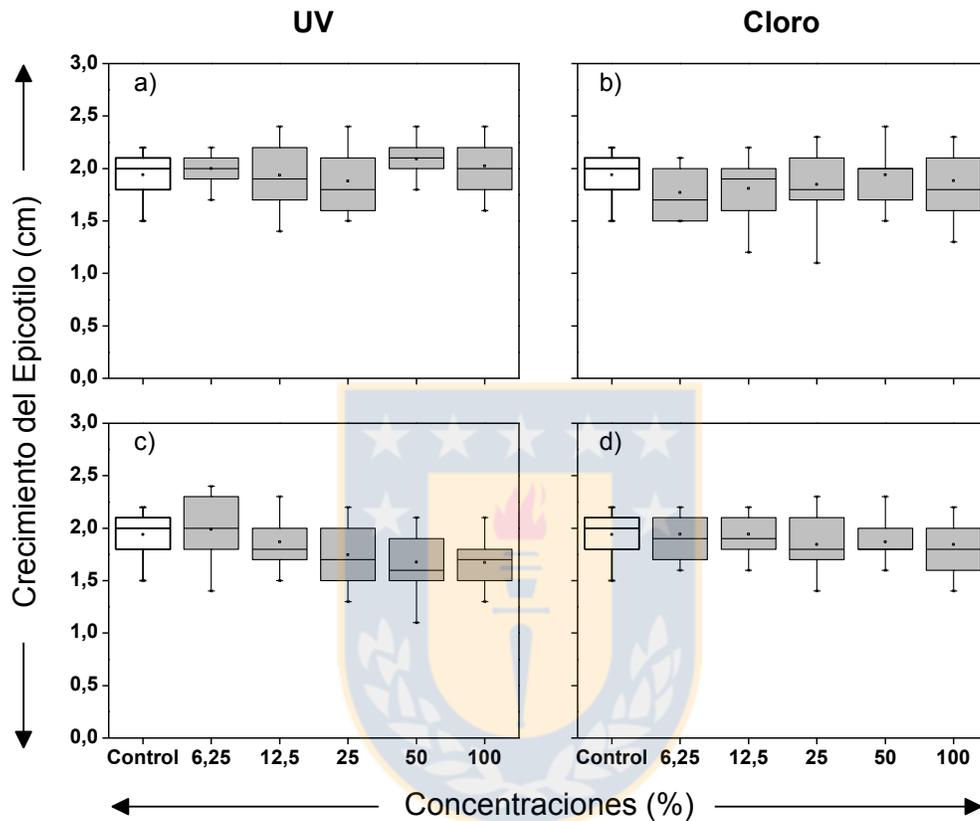


Figura 10. Crecimiento del epicotilo para *Triticum aestivum* irrigado en placas con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl

En las semillas irrigadas con la muestra LA-Cl (Figura 10b.), la elongación del epicotilo presentó un crecimiento inferior al control, sin embargo, la variación no superó el 9% ($p > 0.05$) con elongaciones que estuvieron en el rango 1,8-1,9 cm. El menor crecimiento se dio en la concentración 6,25% y dicho crecimiento aumento proporcionalmente al incremento en la concentración de efluente aplicado. Podemos observar una influencia del aporte de nutrientes en forma de

amonio, la que se expresa en el incremento del tamaño del epicotilo a mayores concentraciones de N-NH_4^+ . Se ha descrito que para concentraciones de N-NH_4^+ menores a 18,02 mg/L se han reportado existe un variaciones positivas en la longitud de un 18% (0,2 cm) en el desarrollo del epicotilo, además de la rápida asimilación de nitrógeno que se da cuando este nutriente se encuentra en forma de amonio (Miller y Cramer, 2005; Jampeetong y Brix, 2009).

En cuanto al efluente de HFSSH (UV y Cl) se obtuvieron tamaños de epicotilo entre los 1.1 y 2.4 cm. Para la muestra HFSSH-UV (Figura 10c.), solo en la concentración 6,25% se obtuvo una elongación del epicotilo un 3% (variación de 0,1 cm) superior a la media control pero esta variación no fue significativa con respecto al control ($p > 0,05$). El comportamiento del epicotilo fue inversamente proporcional al aumento de la concentración, obteniéndose reducciones del tamaño del epicotilo desde un 4% en la concentración 12,5% (1,8 cm promedio), un 10% en la concentración 25% (1,7 cm promedio), hasta un 14% en la concentración 100% (1,67 cm promedio). Para las semillas irrigadas con HFSSH-Cl el crecimiento se mantuvo cercano al control no detectándose variaciones superiores al 5%. Si bien existió un aumento el tamaño con respecto al control en las concentraciones 6,25 y 12,5%, dicha variación no supero 0,1% ($p > 0,05$).

La Figura 11 muestra las longitudes de la raíz de las semillas de la especie *Triticum aestivum*, para el bioensayo en placas. Las semillas irrigadas con efluente de LA (Figura 11a. y 11b.) presentaron un crecimiento en la raíz entre 3,0 y 12,1 cm. Para las semillas irrigadas con LA-UV (Figura 11a.) se observa que en las concentraciones 6,25%, 25% y 50%, se obtuvieron valores medios superiores al control de 13%, 8,6% y 10%, respectivamente. Sin embargo, en la concentración 100% la elongación de la raíz fue de 5,92 cm, 16% menos que el control (7,0 cm). Lo anterior, puede deberse a que en condiciones de campo donde el suministro de N es limitado, las plantas pueden aumentar su tamaño de raíz para asimilar N más soluble del suelo (Villagarcia et al., 1998). Sin embargo, cuando el suministro es suficiente, no es necesario que las plantas tengan sistemas radiculares grandes y

el crecimiento de las raíces puede ser restringido. Por ende con el aumento de la concentración el crecimiento se restringe (Wang *et al.*, 2008).

Por su parte, para la muestra LA-CI (Figura 11b.) los resultados obtenidos indican una tendencia a la reducción del tamaño en función del aumento de la concentración alcanzando un tamaño de 6,0 cm en la concentración 100%, un 13% menor al control. Solo la concentración 6,25% superó el tamaño medio del control (7,0 cm) y esta variación alcanzo un 10%, sin embargo no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

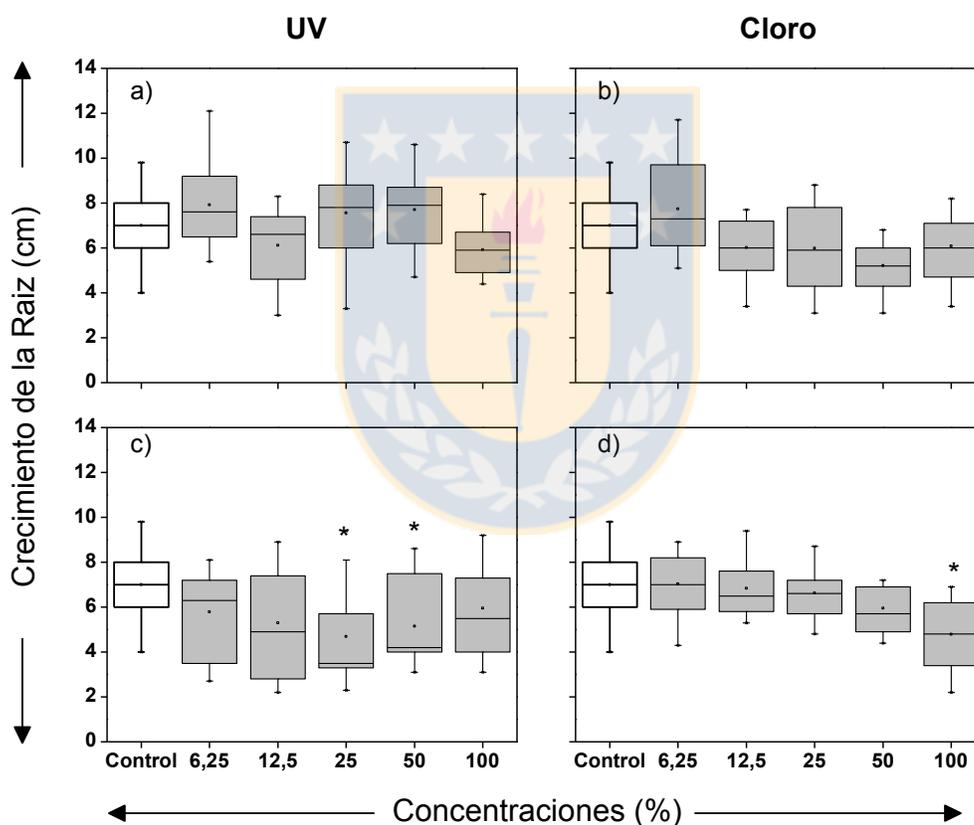


Figura 11. Crecimiento de la raíz para *Triticum aestivum*, irrigado en placas con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.

Lo anterior, puede deberse al efecto del cloro en las plantas, de acuerdo a Ibrahim *et al.* (2015) quienes describieron reducciones en la elongación de la raíz entre un 25-45% a concentraciones de cloro entre 1,5-2,0 mg/L, Dichas concentraciones de cloro libre son entre 52-64% inferiores a las obtenidas para la muestra LA-Cl. (Tabla 6).

En cuanto a la aplicación del efluente HFSSH (Figura 11c. y 11d.) la elongación de la raíz en las semillas irrigadas varió entre 2.2 y 9.4 cm. Las semillas irrigadas con HFSSH-UV (Figura 11c.) presentaron los menores crecimientos respecto a la media del control (7,00 cm) en la concentración 25% (4,69 cm promedio) con una variación significativa estadísticamente superior al 30% ($p < 0,05$). Por otra parte, un comportamiento similar fue descrito por Jampeetong y Brix (2009), quienes indicaron que entre 4,5-90,2 mg/L de amonio existió una variación con una reducción de tamaño de 0,5 cm en una concentración intermedia (18,04 mg/L) para luego 0.3 cm, en la concentración 90.2 mg/L.

Para la muestra HFSSH-Cl (Figura 11d.), las mediciones obtenidas presentaron valores menores conforme se aumentó la concentración, obteniéndose variaciones de un 3%, 6%, 14% y 31% entre las concentraciones 12,5%, 25%, 50% y 100%, respectivamente. La concentración 6,25% fue la única en presentar crecimientos superiores a la media control pero esta variación no fue significativa ($p > 0,05$) con respecto al control. Dicho comportamiento puede deberse a la presencia de cloro, por el efecto oxidante de este agente desinfectante sobre los potenciadores de crecimiento presentes en las semillas y que a concentraciones superiores a 2,0 mg/L a presentado reducciones en la elongación de la raíz de un 14% (Ibrahim *et al.*, 2015) como también efecto que puede tener el nitrógeno amoniacal en las plantas. Dicho compuesto es absorbido en una porción reducida por su toxicidad (Salsac *et al.*, 1987). Además, debido a que las raíces de las plantas se desarrollan en función de la oferta de nutrientes y agua, una alta concentración de nutrientes podría explicar la reducción de tamaño de las raíces (Andriolo *et al.*, 2006).

5.2.2. Indicadores de germinación y crecimiento

En la Figura 12 se describen los indicadores de toxicidad, asociados a la inhibición de germinación y elongación de la radícula para las muestras aplicadas en la especie *Raphanus sativus* para el bioensayo en placas.

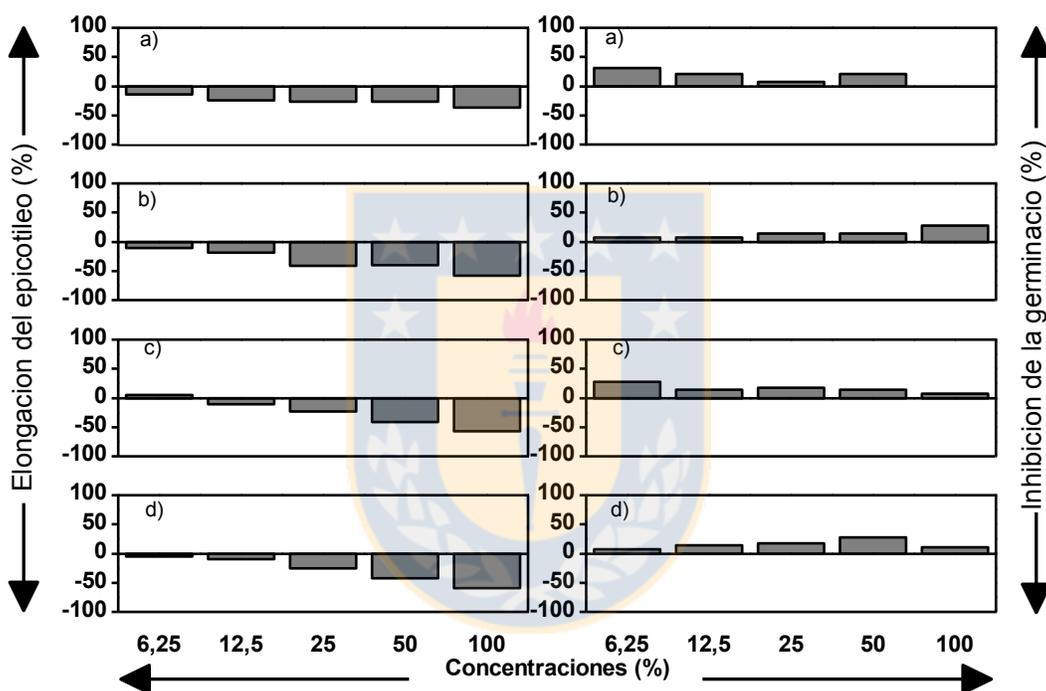


Figura 12. Porcentajes de elongación de Epicotilo-PEE (figuras izquierda) e inhibición de la germinación-PIG (figuras derecha) de *Raphanus sativus* para el bioensayo en placas. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.

El PEE (Figura 12) fue negativo para todas las muestras excepto para la muestra HFSSH-UV en la concentración 6,25%, pero en esta, la reducción de la elongación con respecto al control (1.7 cm) no supero 6% equivalente a una diferencia 0.1 cm. Por lo cual, se puede inferir que a nivel de epicotilo no existe efecto inhibitorio del

crecimiento. Por el contrario, se observa que con un aumento de la disponibilidad de nutrientes (principalmente N-NH_4^+), el PEE alcanza valores entre un -36% y un -59% (PEE negativo = estimulación del crecimiento) en la concentración 100% (Villamar *et al.*, 2015). Siendo el efluente HFSSH el que genero PEE entre -56% y -59%. Esto se asocia a las mayores concentraciones de N-NH_4^+ (HFSSH-UV= 75,81 mg/L; HFSSH-CI= 47.46 mg/L) presentes. En otros estudios se ha indicado que en presencia de concentraciones de N-NH_4^+ entre 18,04-90,2 mg/L se han reportado aumentos en el tamaño del epicotilo de la especie *Raphanus sativus* (Andriolo *et al.*, 2006; Jampeetong y Brix, 2009).

En cuanto al PIG (Figura 12), se observa que este disminuye en los efluentes LA-UV (Figura 12a) y HFSSH-UV (Figura 12c) conforme aumenta la concentración de estos. Para LA-UV, los PIG obtenidos en las concentraciones 6,25%, 12,5% y 50% estuvieron en el rango 10%-25% lo que indica que la muestra puede ser toxica para las plantas (Villamar *et al.*, 2015). Por su parte, para la muestra HFSSH-UV, el PIG optimo (PIG < 10%) (Villamar *et al.*, 2015), solo se logró en la concentración 100%. No obstante, solo en la concentración 6,25% de la muestra HFSSH-UV, se observó un PIG > 10% y además, un PEE positivo, lo que indicaría un efecto toxico tanto en la germinación como en el desarrollo del epicotilo, según lo descrito por Villamar *et al.* (2015).

Para los efluentes LA-CI (Figura 12b) y HFSSH-CI (Figura 12d), el aumento del PIG fue directamente proporcional al incremento de la concentración teniendo valores de 27% para LA-CI y 37% para HFSSH-CI en la concentración 100% y PIG < 10% en la concentración 6,25%. Esto puede deberse al aporte iónico del agente desinfectante. Se ha estudiado que la presencia de sales, iones y materia orgánica afecta negativamente de la germinación y el crecimiento temprano de las plantas por el estrés osmótico inducido por la sal que varía de una especie a otra (Ashraf, 2004). Así se han reportado reducciones que van desde un 5-80% para distintas especies de la familia *Brassicaceae* (Bojovic *et al.*, 2010), siendo *Raphanus Sativus*, parte de dicha familia.

En la Figura 13 se describen los indicadores de toxicidad, asociados a la inhibición de germinación y elongación de la radícula para la especie *Triticum aestivum* en placas.

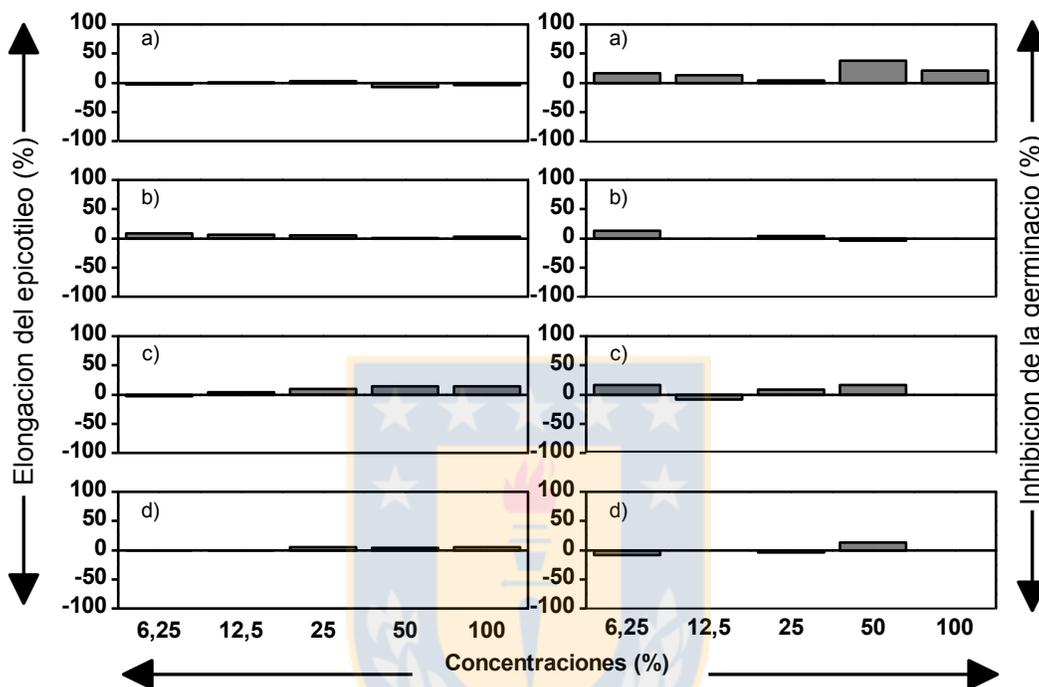


Figura 13. Porcentajes de elongación de Epicotilo-PEE (figuras izquierda) e inhibición de la germinación-PIG (figuras derecha) de *Triticum aestivum* para el bioensayo en placas. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.

Se observa que para el efluente LA (Figura 13a y 13b), el PEE se reduce a medida que aumenta la concentración alcanzando valores de 2,9% y -4,3% a la concentración 100% de LA-UV y LA-CI, respectivamente. Por otro lado, los mayores PEE se presentan para la muestra HFSSH-UV (Figura 13c) con valores 10%, 13,7% y 13,8% para las concentraciones 25%, 50% y 100%, respectivamente. Pese a esto la variaciones en los tamaños de epicotilo registrado no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Por su parte, la muestra

HFSSH-CI (Figura 13d), produjo en las semillas un aumento en el PEE directamente proporcional. Dicho indicador presento valores de 4.8%, 3.6% y 4.8% para las concentraciones 25%, 50% y 100%, respectivamente. Esto indica que hubo una incidencia de las concentraciones de $N-NH_4^+$, en el desarrollo del epicotilo. En mayores concentraciones de $N-NH_4^+$ (efluente HFSSH) el epicotilo fue de menor tamaño (PEE = valor positivo) mientras que a menores concentraciones de $N-NH_4^+$ (efluente LA), si bien el PEE mantuvo su valor positivo, lo que indica un crecimiento menor al control, estos valores fueron inferiores al 8% lo que indica que la reducción del epicotilo fue menor (PEE cercano a 0) o bien hubo una estimulación en el crecimiento de este (PEE = valor negativo). Dicho comportamiento concuerda con lo indicado en la bibliografía. Se ha descrito que ha concentraciones de 18.04 mg/L ($N-NH_4^+$) el desarrollo del epicotilo *Triticum aestivum* alcanza diferencias de hasta un 27% (incremento de 0,5 cm), respecto al control (Cox y Reisenauer, 1962). Otros autores han descrito que a concentraciones de hasta los 25 mg/L ($N-NH_4^+$), se han alcanzado elongaciones del epicotilo superiores al control de un 30% en algunos cultivos de *Fragaria x ananassa* (Tabatabaei *et al.*, 2006).

En la Figura 13 se observa que el PIG en las concentraciones 6.25%, 12.5%, 50% y 100%, alcanza valores de 17%, 13%, 38% y 21%, respectivamente. Estos valores indican un efecto toxico de la muestra LA-UV (Figura 13a), sobre la germinación de la especie *Triticum aestivum* (PIG > 10%) Los efluentes LA-CI, HFSSH-UV y HFSSH-CI presentaron PIG iguales a 0 en la concentración 100% lo que indica que la cantidad de germinados fue igual a los germinado en el control. Es decir, en la concentración 100% no se observó un efecto en la germinación.

La Figura 14 presenta el indicador de germinación para la especie *Raphanus sativus*, que relaciona los datos de porcentaje de germinación relativo (PGR) con los datos de crecimiento de la radícula relativo (CRR) para el bioensayo en placas.

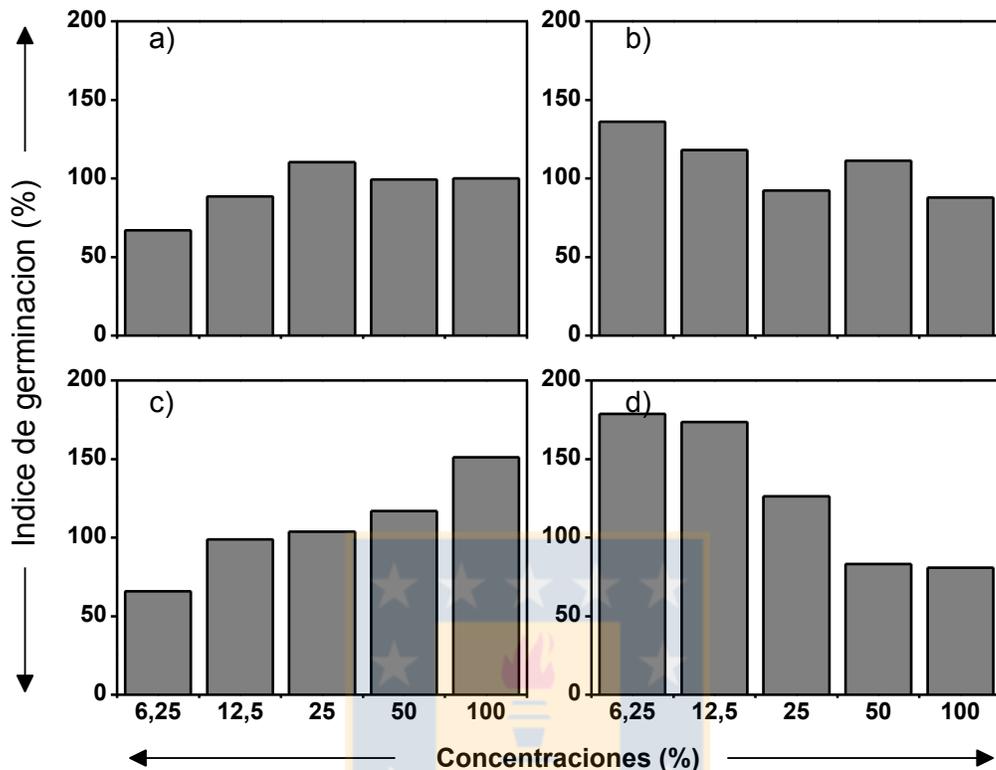


Figura 14. Indicadores de germinación de *Raphanus sativus* para el bioensayo en placas. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.

Se pueden observar que para los efluentes desinfectados con irradiación UV (Figura 14a y 14c) el índice de germinación presenta un incremento entre la concentración 6,25% y la concentración 100%. En su mayoría, los IG para dichos efluentes superan el 80% por lo que es descartable la presencia de agentes fitotóxicos o bien, estos se encuentran en muy baja concentración (Zucconi *et al.*, 1981).

En las Figuras 14b y 14c se observa que el IG se reduce al aumentar la concentración sin embargo no se obtuvieron valores de IG inferiores al 80% por lo que se descarta la acción fitotóxica (Zucconi *et al.*, 1981). El comportamiento

descrito se relaciona por los efectos que la cloración y el aumento de la concentración de iones tienen tanto a nivel de desarrollo de la raíz como en la inhibición de la germinación (Ashraf, 2004; Bojovic *et al.*, 2010; Ibrahim *et al.*, 2015).

La Figura 15 presenta el indicador de germinación para la especie *Triticum aestivum* que relaciona los datos de porcentaje de germinación relativo (PGR) con los datos de crecimiento de la radícula relativo (CRR) para el bioensayo en placas.

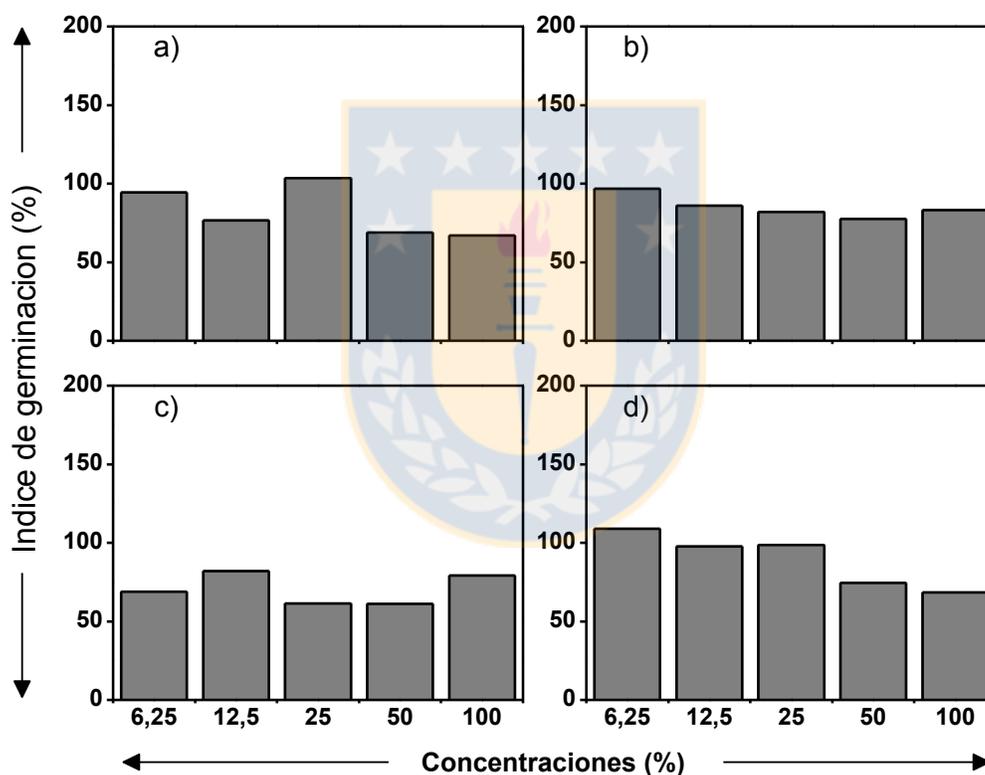


Figura 15. Indicadores de germinación de *Triticum aestivum* para el bioensayo en placas. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.

Los valores del IG obtenidos para *Triticum aestivum* en el bioensayo en placas para la muestra HFSSH-UV (Figura 15c), estuvieron en el rango 50-80%, lo que según la categorización propuesta por Zucconi et al. (1981), supone la presencia de efecto tóxico en la germinación. Esto indicaría que la especie *Triticum aestivum* presenta una sensibilidad negativa hacia las concentraciones de nitrógeno en la forma $N-NH_4^+$. Sin embargo, el valor del IG se incrementa en casi un 10% desde la concentración 6.25% (IG = 68,9%) a la concentración 100% (IG = 79,1%). Se ha estudiado que en presencia de concentraciones de $N-NH_4^+$ mayores a 18 mg/L la velocidad de germinación de la especie *Triticum aestivum* puede verse reducida lo que explicaría el menor IG (Cox y Reisenauer, 1973). Sin embargo, también se ha relacionado la reducción en la germinación y crecimiento de las plantas con factores como la intensidad de la luz, la temperatura del medio de la raíz, el pH del medio y el suministro de iones Potasio (Guo et al., 2007).

5.3. Evaluación de la respuesta diferencial de bioindicadores de toxicidad irrigados en suelo proveniente de LA y HFSSH, sometida a procesos de desinfección.

5.3.1. Parámetros morfológicos

La Figura 16 describe el crecimiento del epicotilo para el bioensayo realizado en suelo utilizando la especie *Raphanus Sativus* para las distintas muestras de efluente.

En su mayoría (80% de las concentraciones entre ambos efluentes), se observa que hubo un efecto negativo sobre el crecimiento del epicotilo (Figura 16). Para el efluente LA con desinfección (Cl y UV) se obtuvieron tamaños entre 2,3-8,0 cm. Para las muestras LA-UV y LA-Cl, se observa que el crecimiento del epicotilo aumenta conforme aumenta la concentración de efluente aplicado (Figura 16a. y 16b.). Se obtuvo, que la variación del crecimiento del epicotilo con respecto al control fue significativa en todas las concentraciones para la muestra LA-UV.

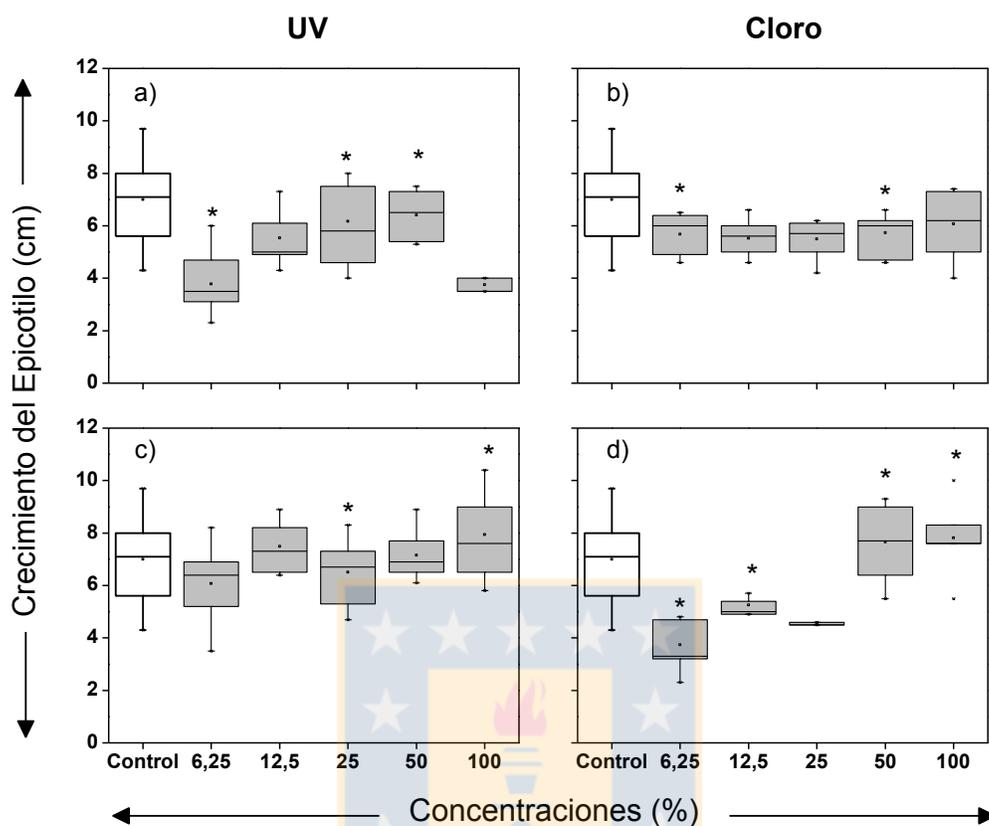


Figura 16. Crecimiento del epicotilo para *Raphanus Sativus* irrigado en suelo con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.

Mientras que para la muestra LA-Cl la única variación significativa se observó a la concentración 6.25% con un 17% (0,8 cm) de crecimiento inferior al control. Mendoza-Espinosa et al. (2008) determinaron que existe un incremento en el crecimiento de las plantas irrigadas con aguas servidas debido al aporte de nutrientes, en especial el nitrógeno total ($N-NO_3^- = 1-18\text{mg/L}$; $N-NH_4^+ = 1-10\text{ mg/L}$) además de fósforo. Dichas concentraciones son cercanas a lo determinado por la caracterización de esta investigación.

Por su parte, las semillas de *Raphanus Sativus* irrigadas con el efluente de HFSSH (Figura 16c. y 16d.) tuvieron crecimientos de epicotilo entre 2,3-10,4 cm.

Para la muestra HFSSH-UV (Figura 16c.), se observaron tamaños promedio de epicotilo de 6,07 cm; 7,49 cm; 6,50 cm; 7,16 cm y 7,94 cm. Dichas mediciones corresponden a las concentraciones 6,25%; 12,5%; 25%; 50% y 100%, respectivamente. Para las concentraciones 50 y 100% se detectaron crecimientos superiores al control (4 y 15 %, respectivamente), sin embargo, estos cambios no fueron significativos estadísticamente ($p > 0.05$). Por su parte, para las semillas de *Raphanus Sativus* irrigadas con la muestra HFSSH-CI (Figura 16d.), se detectó que solo la concentración 100% presentó crecimientos un 14 % superiores al control (6,8 cm) ($p < 0.05$). Esta estimulación en el desarrollo puede estar dada por las concentraciones de $N-NH_4^+$ tanto en efluente HFSSH-UV (75.81 mg/L) como en HFSSH-CI (47.46 mg/L) (Tabla 5). Dichas concentraciones, superan la concentración límite (18.04 mg/l) de $N-NH_4^+$ a la cual se presentan efectos positivos en la elongación del epicotilo según lo descrito por Jampeetong y Brix, (2009) por lo que podría esperarse que se genere un efecto toxico sobre las plantas, lo que eventualmente podría traducirse en una reducción del crecimiento. Sin embargo, se ha descrito que en condiciones de suelos salinos ($CE > 750 \mu S/cm$) donde prevalece el amonio como fuente principal de nitrógeno, las semillas lo absorben generándose plantas más vigorosas (Wang *et al.*, 1993).

La Figura 17, presenta los valores de la medición de raíces realizada al bioensayo en suelo utilizando la especie *Raphanus Sativus*.

En la Figura 17 se puede observar que el crecimiento de la raíz varía respecto al control, con diferencias entre 2-55% menor al control. Para las plantas irrigadas con efluente de LA los tamaños oscilan entre 1.2-6.5 cm y se observa que el crecimiento de la raíz aumenta a mayores concentraciones. En el caso de las plantas irrigadas con efluente LA-UV las diferencias con respecto al control oscilan entre 1,5-20% con las mayores elongaciones de raíz observadas en la concentración 100% (Figura 17a.), cuya variación fue significativa estadísticamente ($p < 0.05$). A pesar de que en los efluentes LA-UV y LA-CI se obtuvieron concentraciones similares con variaciones que no superaron en

promedio un 8% (Tabla 6), los crecimientos de raíz fueron mayores en las semillas irrigadas con efluente LA-UV (Figura 17a).

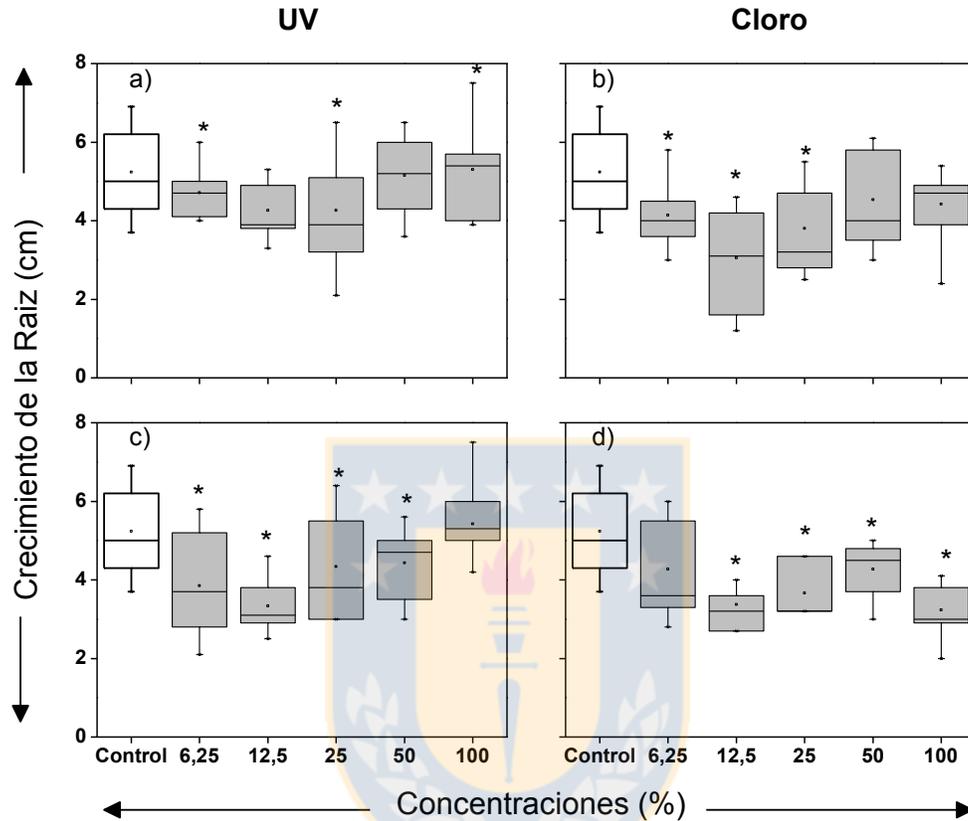


Figura 17. Crecimiento de la raíz para *Raphanus Sativus* irrigado en suelo con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.

Dicho comportamiento sugiere la acción de algún agente externo relacionable con la concentración de materia orgánica y la presencia de cloro (principales diferencias a nivel de concentraciones). Sin embargo, se ha establecido que debido al riego con aguas servidas tratadas la materia orgánica del suelo aumenta solamente en el suelo superior (Mohammad y Mazahreh, 2003), con porcentajes de retención entre un 56-88% para cargas de DQO de 285 mg/L y 967 mg/L (Chartier *et al.*, 2014). Además de no generar un efecto que altere las condiciones de la materia orgánica ya presentes en el suelo (Vasquez-Montiel *et*

al., 1996). Por ende, este comportamiento podría estar explicado por la concentración de Cloro presente la cual puede condicionar el crecimiento al actuar sobre los microorganismos presentes en las cercanías o incluso en la corteza de la semilla (Ibrahim *et al.*, 2015).

En cuanto al efluente HFSSH (Figura 17c. y 17d.), las longitudes variaron entre 2.0-7.5 cm. Para la muestra HFSSH-UV (Figura 17c.) el crecimiento promedio de la raíz fue de 5.4 cm (concentración 100%), 4% mayor que la media control (5.2 cm), sin embargo esta variación no fue significativa en comparación al crecimiento observado a la concentración 6,25% con una variación del 26% con respecto al control ($p < 0.05$). Por su parte, las semillas irrigadas con efluente HFSSH-Cl (Figura 17d.) muestran un comportamiento inversamente proporcional entre la longitud de la raíz, a menores concentraciones (3.2-4.3 cm). Al igual que en el efluente LA, el mayor desarrollo de raíces se dio en el efluente desinfectado con UV. Si bien se ha reportado que la concentración de nutrientes suele estimular el desarrollo de las raíces (Villagarcía *et al.*, 1998), el amonio aportante de nitrógeno a concentraciones inferiores a 90 mg/L puede actuar como potenciador del crecimiento otorgando vigorosidad a los órganos de la planta (Wang *et al.*, 1993; Jampeetong y Brix, 2009).

La Figura 18, presenta el crecimiento del epicotilo observado en el bioensayo en suelo realizado irrigando semillas de la especie *Triticum aestivum*.

Con excepción de la Figura 18a, se observa una tendencia al aumento de tamaño del epicotilo conforme la concentración de efluente aumenta. En el cultivo irrigado con efluente LA-UV se obtuvo un crecimiento del 18% sobre el control a la concentración 6.25%, reduciéndose los tamaños en los cultivos irrigados con la concentración 100% en un 48% ($p < 0,05$). En las plantas irrigadas con efluente LA-Cl (Figura 18b.), el rango de crecimiento estuvo entre 2.0-6.5 cm, sin embargo, en promedio el crecimiento en todas las concentraciones estuvo por debajo de la media control (5.1 cm) entre un 1-17%, no obteniéndose diferencias significativas

respecto al control ($p > 0.05$). Las variaciones en el crecimiento del epicotilo de *Triticum aestivum* irrigado con LA-CI (Figura 18b.), dado que son inferiores a 1 cm, pueden ser atribuibles a la expresión fenotípica de las semillas (Colema *et al* 1994).

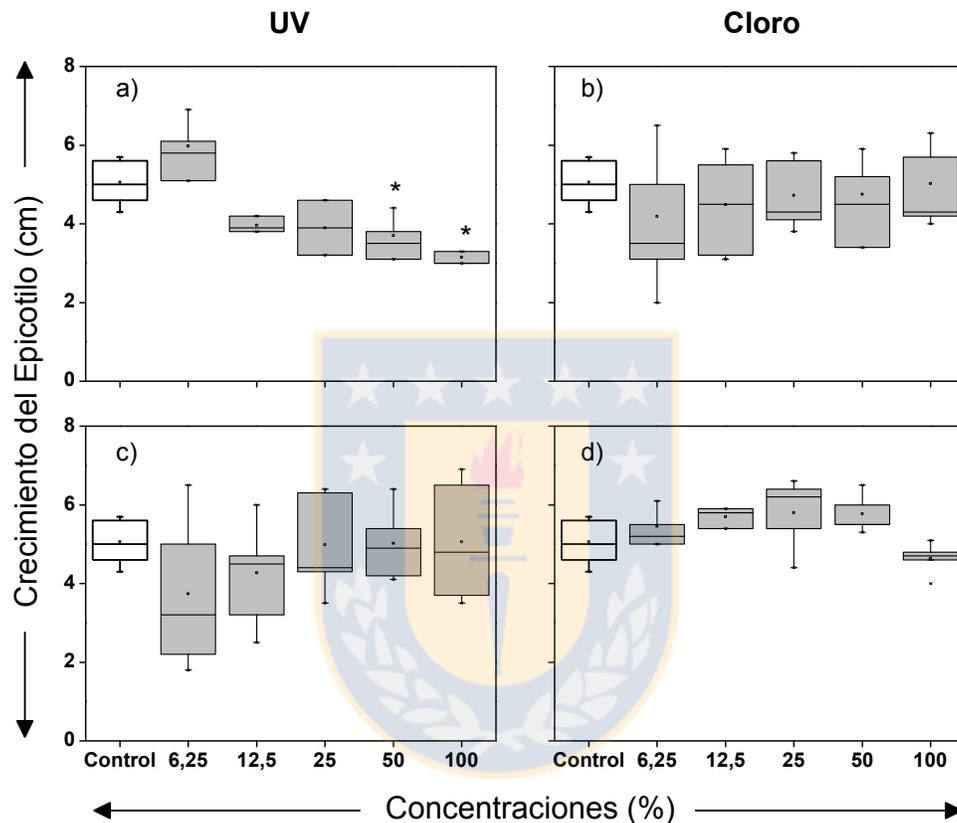


Figura 18. Crecimiento del epicotilo para *Triticum aestivum* irrigado en suelo con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.

Sin embargo, podemos observar que en la muestra irrigada con LA-Cl, el crecimiento es mayor, esto puede estar relacionado con la mayor concentración de nutrientes de rápida asimilación presentes en dicho efluente ($N-NH_4^+$: 4,18 mg/L) (Wang *et al.*, 1993; Jampeetong y Brix, 2009).

Para las semillas irrigadas con la muestra de HFSSH mostraron un crecimiento de epicotilo que vario entre 1.8-6.9 cm, pero en ninguna de las muestras se obtuvieron variaciones estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Sin embargo, las semillas irrigadas con la muestra HFSSH-Cl presentaron crecimientos superiores al control entre un 7% (concentración 6.25%) y un 15% (concentración 50%) (Figura 18d). En cuanto a las semillas irrigadas con la muestra HFSSH-UV, el crecimiento de estas fue inferior al control. Así, en la concentración 6,25% la variación fue de un 26%, la cual se redujo conforme aumento la concentración, llegando a un 2% en la concentración 25%. Si bien el aporte de nutrientes incrementa el crecimiento de las plantas, a concentraciones superiores a 90-110 mg/L se ha descrito reducciones en el desarrollo del epicotilo de un 7% con respecto al control (Andriolo *et al.*, 2006; Jampeetong y Brix, 2009).

La Figura 19, muestra la medición de la longitud de la raíz de las semillas de la especie *Triticum aestivum*, para el bioensayo en suelo.

La longitud de la raíz presentó una tendencia similar para ambos sistemas de tratamiento y tipos de desinfección (Figura 19). Si bien los tamaños de raíz aumentan conforme aumenta la concentración de la muestra aplicado, en su mayoría los tamaños de raíz son inferiores entre un 0,8-3% respecto a la media control (6.2 cm). Para las semillas de *Triticum aestivum* irrigadas con efluente LA, los tamaños de raíz obtenidos oscilaron entre 3,0-9,2 cm, reportándose promedios superiores al control en las concentraciones 50 y 100% (6,9 y 6,6 cm, respectivamente) de los cultivos irrigados con la muestra LA-UV (Figura 19a.). Por su parte, la muestra LA-Cl (Figura 19b.) generó crecimientos inferiores al control entre 20-3% para la concentración 6.25% y la concentración 100%, respectivamente.

Para el efluente de HFSSH se reportaron tamaños entre 3,2-9,1 cm. Para los cultivos irrigados con efluente HFSSH-UV, los tamaños de raíz detectados se

mantuvieron inferiores a la media control con variaciones significativas ($p < 0,05$) en la concentración 25% (5,17 cm) respecto al control (6,2 cm) (Figura 19c.).

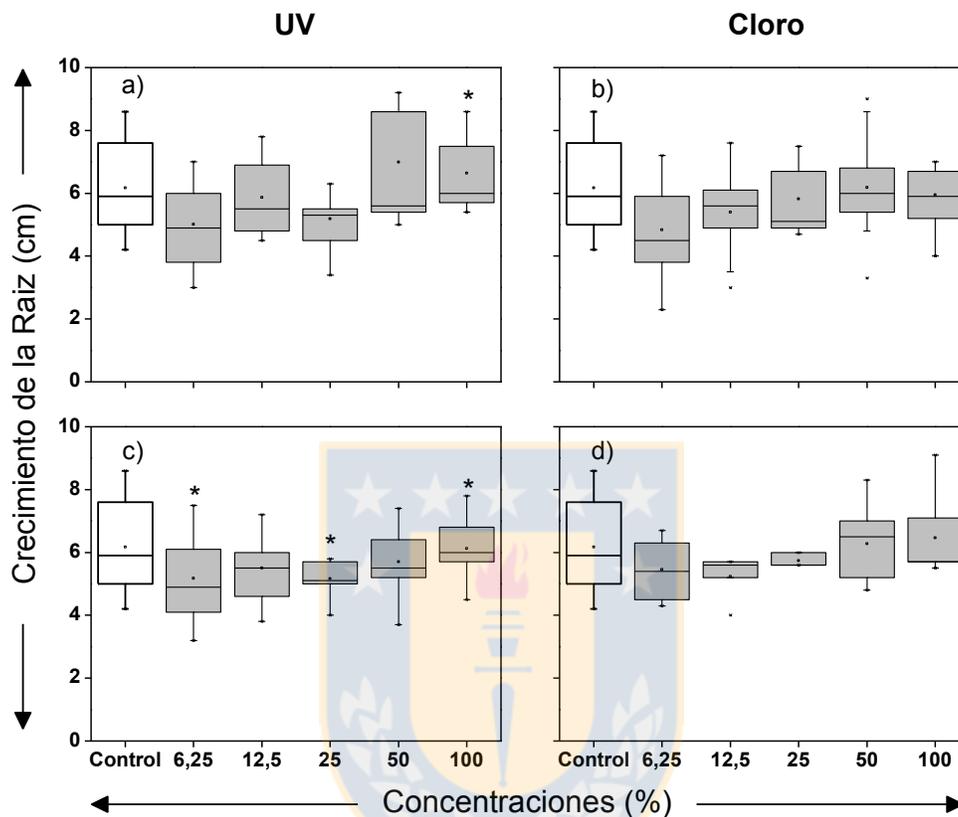


Figura 19. Crecimiento de la raíz para *Triticum aestivum*, irrigado en suelo con: a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.

Por su parte, los cultivos irrigados con HFSSH-Cl presentaron crecimientos superiores al control en las concentraciones 50 y 100%, con valores medios de 6,3 y 6,5 cm, respectivamente sin registrarse variaciones estadísticamente significativas en ninguna de las concentraciones.

Se puede observar que, en la muestra de LA, los mayores crecimientos de la raíz se dan en ausencia de cloro. Sin embargo, en el efluente de HFSSH los mayores crecimientos se dan en presencia de este agente oxidante. Esto se debe a que, a

menores concentraciones de N-NH_4^+ (LA-CI = 3.54 mg/L y LA-UV = 4.18 mg/L) las raíces se desarrollan más en busca de dichos nutrientes (Jampeetong y Brix, 2009). Además, en presencia de cloro y bajas concentraciones de amonio, el cloro libre puede incidir en el crecimiento y desarrollo de las raíces en mayor medida debido a la menor formación de cloro combinado (Lee y Westerhoff, 2009; Ibrahim *et al.*, 2015). Por su parte, el efluente de HFSSH posee una mayor concentración de nutrientes, que en valores cercanos o superiores a 90 mg/L puede resultar en un descenso del desarrollo (Andriolo *et al.*, 2006). Sin embargo, para la muestra HFSSH-CI, la concentración de amonio resulta ser menor (37%) que en HFSSH-UV por la combinación con el cloro libre (Lee y Westerhoff, 2009), lo que permite potenciar el crecimiento por presencia de amonio siempre que este se encuentre a concentraciones menores a 54 mg/L (Andriolo *et al.*, 2006; Jampeetong y Brix, 2009).

5.3.2. Indicadores de germinación y crecimiento

En la Figura 20 se describen los indicadores de toxicidad, asociados a la inhibición de germinación y elongación de la radícula para las muestras aplicadas en la especie *Raphanus sativus*.

El PEE fue positivo, lo que es indicador de una reducción la elongación del epicotilo respecto al control, para todas las concentraciones tanto para la muestra LA-UV como para LA-CI (Figura 20.a y 20.b). Las mayores reducciones en la elongación del epicotilo se observaron en la concentración 100% para los efluentes LA-UV y LA-CI con PEE de 45%(-3 cm respecto al control) y 12%(-1 cm respecto al control), respectivamente.

Por su parte, los cultivos irrigados con los efluentes HFSSH-UV y HFSSH-CI (Figura 20.c y 20.d) presentaron PEE negativos (-16% y -14% para HFSSH-UV y HFSSH-CI, respectivamente) en la concentración 100% lo que indica un aumento significativo ($p < 0,05$) en el crecimiento respecto al control (1,1 cm y 1,2 cm de aumento respecto al control).

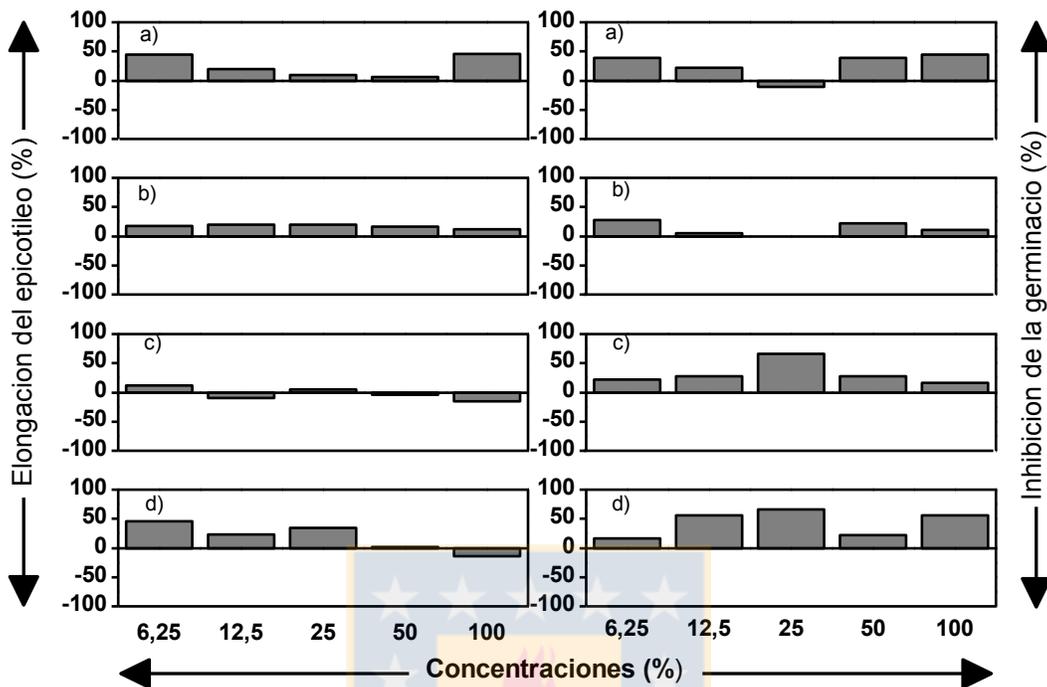


Figura 20. Porcentajes de elongación de Epicotilo-PEE (figuras izquierda) e inhibición de la germinación-PIG (figuras derecha) de *Raphanus sativus* para el bioensayo en suelo. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.

En general el comportamiento de PEE es similar al descrito para *Raphanus sativus* en la Figura 20 (PEE y PIG para bioensayo en placas), sin embargo, el efecto estimulador de los efluentes se ve reducido, pues los nutrientes son absorbidos por la raíz desde la fase líquida, la cual, se encuentra más reducida en la composición de suelo y se ven afectados de mayor forma los mecanismos de flujo de masa y difusión los cuales rigen el movimiento de los nutrientes por transpiración y agitación térmica de las moléculas (Movimiento Browniano), respectivamente (Jungk, 2001). Una alta concentración de nutrientes puede afectar la conductividad del suelo, lo que se traduce en una reducción del intercambio catiónico a nivel de suelo (Hamilton *et al.*, 2007). Se ha reportado que

concentraciones de NT cercanas a los 30 mg/L han provocado desarrollo tardío en algunas especies como *Helianthus annuus* L. (Marecos Do Monte, 1998). Este retraso en el crecimiento puede atribuirse a que a conductividades eléctricas superiores a 2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ se producen variaciones en el equilibrio osmótico, lo que afecta el flujo de nutrientes según el anión o catión dominante a pH neutro (6-8), además de reducir en un 5% la absorción de agua por parte de las semillas, lo que tiene incidencia directa en el desarrollo de la planta (Rengasamy, 2006; Rengasamy, 2010).

A nivel de PIG, los valores obtenidos oscilan entre -11% y 44% para los efluentes LA-UV y LA-Cl (Figura 20a y 20b). Para la aplicación de ambos efluentes en la especie *Raphanus sativus*, no se presentaron efectos tóxicos en la concentración 25%. Sin embargo, en la concentración 100% la germinación se redujo un 20% y un 60% para los efluentes HFSSH-UV y HFSSH-Cl, respectivamente. Se ha descrito que en general los efluentes de tratamiento de aguas servidas tienden a alterar los sistemas de riego (Hamilton *et al.*, 2007), debido a la carga iónica (CE > 750 $\mu\text{S}/\text{cm}$) en el agua o en el suelo, lo que reduce la germinación de las plantas por el estrés osmótico que pueden causar algunas sales (Ashraf *et al.*, 2004). Dicha condición se da en el efluente HFSSH el cual posee una conductividad de 1200 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y aunque en este estudio no se analizó el efecto de los efluentes aplicados al suelo, investigaciones sostienen que un aumento en la conductividad por sobre los 1200 $\mu\text{S}/\text{cm}$ de este, puede generar efectos en la estructura física del suelo, como la dispersión de los agregados de suelo, lo que se traduce en una menor permeabilidad reduciendo el paso del agua y la luz, factores de suma importancia en la etapa de geminación de las plantas (Rengasamy, 2006).

En la Figura 21 se describen los indicadores de toxicidad, asociados a la inhibición de germinación y elongación de la radícula para las muestras aplicadas en la especie *Triticum aestivum*.

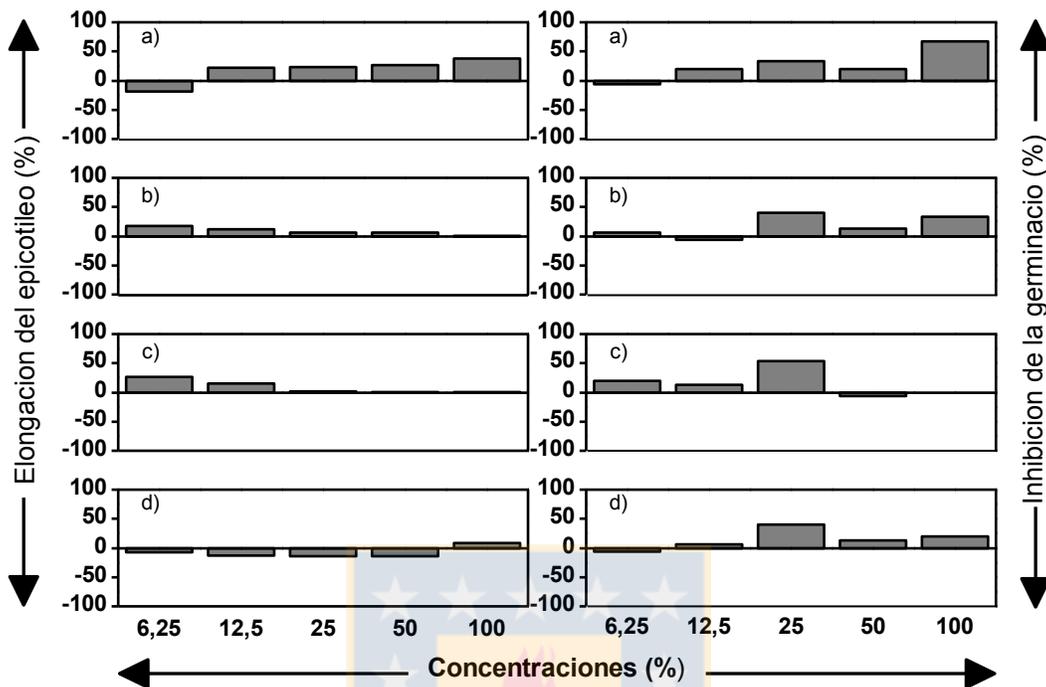


Figura 21. Porcentajes de elongación de Epicotilo-PEE (figuras izquierda) e inhibición de la germinación-PIG (figuras derecha) de *Triticum aestivum* para el bioensayo en suelo. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.

El PEE asociado al crecimiento de las semillas de *Triticum aestivum* irrigadas con la muestra LA-UV (Figura 21a), presento valores desde los -13% (PEE negativo = estimulación del crecimiento) en la concentración 6,25%, los cuales aumentaron a un 23% (concentración 25%), para finalmente alcanzar un PEE de 38% en la concentración 100% ($p < 0,05$). Esto indica un efecto tóxico relacionado con la reducción en el crecimiento. Esto además se ve confirmado con el comportamiento del PIG (Figura 21a.), el cual, indicó una reducción de la germinación de un 67% en la concentración 100%. Este comportamiento, tanto de reducción de tamaño de epicotilo junto con la reducción de los individuos germinados no es atribuible a la concentración de nutrientes, debido a que estos

son bajos en este efluente y previamente se ha descrito que a bajas concentraciones de nitrógeno (N-NH_4^+), la especie *Triticum aestivum*, suele tener mayores tasas de desarrollo y crecimiento (Tabatabaei *et al.*, 2006), ni tampoco a un aumento en la conductividad, la que es cercana la del agua comúnmente usada para riego (Hamilton *et al.*, 2007), por lo cual se puede inferir que se debe a factores externos, tales como la intensidad de la luz, la temperatura del medio a nivel de la raíz, el pH del medio, entre otros (Guo *et al.*, 2007).

Por su parte, la muestra LA-Cl (Figura 21b) presentó una proporcionalidad directa entre el incremento en la elongación del epicotilo y la concentración de la muestra, pasando desde un PEE de 17% en la concentración 6.25% a un PEE de 1% a la concentración 100%. De igual modo, para los casos en que se irrigó con efluente HFSSH-UV (Figura 21c), el PEE fue bajo alcanzando un valor de PEE igual al 0.06% en la concentración 100%. Finalmente, las semillas de *Triticum aestivum* irrigadas con la muestra HFSSH-Cl (Figura 21d) fueron las únicas de dicha especie en presentar PEE negativos. Lo anterior, indica que existió estimulación del crecimiento ($p < 0,05$). Si bien, la concentración de N-NH_4^+ en la muestra HFSSH-UV fue de 75,8 mg/L, esta es superior al rango de concentración de N-NH_4^+ (18-50 mg/L) en el que se ha descrito mayor crecimiento de epicotilo (Andriolo *et al.*, 2006; Tabatabaei *et al.*, 2006), razón por la cual, la muestra HFSSH-Cl presentó los menores PEE lo que indica un mayor desarrollo del epicotilo alcanzando un valor de -14 en la concentración 50%.

El PIG en las semillas de la especie *Triticum aestivum* irrigadas con efluente LA-Cl (Figura 21b) aumentó desde un 7% en la concentración 6.25% a un PIG de 33% en la concentración 100%. Un comportamiento similar se observó en las semillas irrigadas con efluente HFSSH-Cl (Figura 21d) donde se presentaron valores superiores al 10% en las concentraciones 25%, 50% y 100% lo que indica un efecto fitotóxico (Villamar *et al.*, 2015). Esto puede atribuirse al efecto que el cloro y el aumento de la concentración de iones tienen en la inhibición de la germinación, la que en algunos casos se ha visto reducida entre un 5-80%

(Ashraf, 2004; Bojovic *et al.*, 2010; Ibrahim *et al.*, 2015). Solo en las semillas de la especie *Triticum aestivum* irrigadas con la muestra HFSSH-UV (Figura 21c) se observó una disminución en el PIG, desde un 20% (concentración 6.25%) hasta un 6% en la concentración 50% y cercano a 0% en la concentración 100%.

La Figura 22 presenta el indicador de germinación para la especie *Raphanus sativus* que relaciona los datos de porcentaje de germinación relativo (PGR) con los datos de crecimiento de la radícula relativo (CRR).

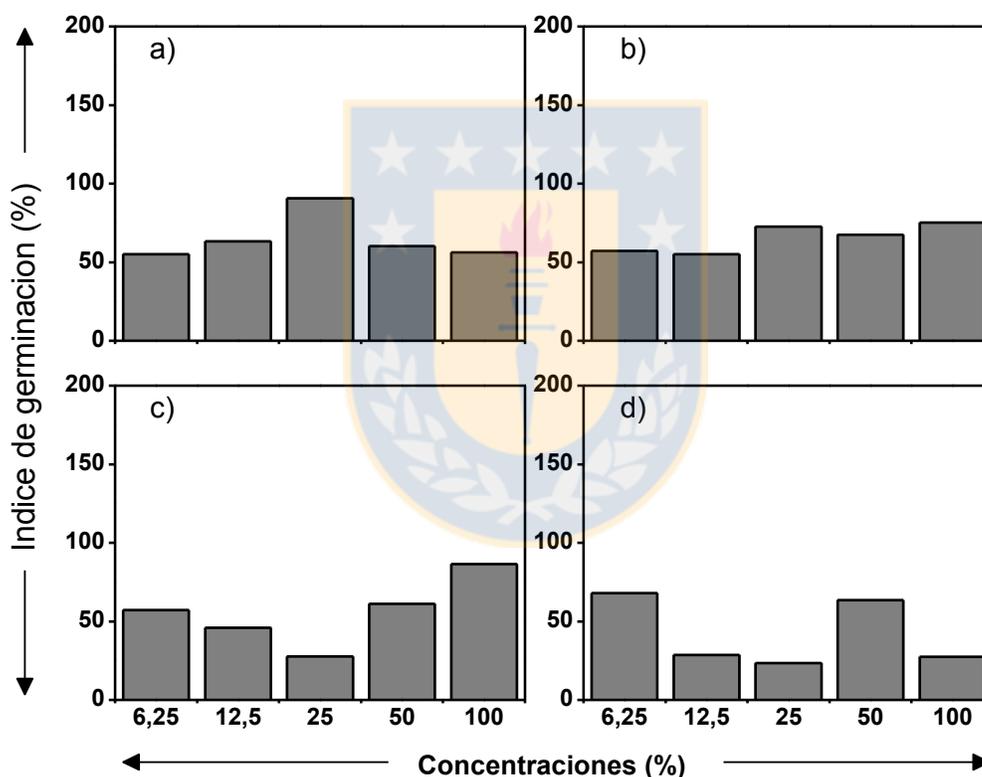


Figura 22. Indicadores de germinación de *Raphanus sativus* para el bioensayo en suelo. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-CI, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-CI.

En la concentración 100% el IG alcanzó un valor de 56% y 65% para los efluentes LA-CL y LA-UV (Figura 22a y 22b), respectivamente. Dichos valores se encuentran en el rango 50%-80%, el cual, según Zucconi *et al.* (1989), es un indicador de una presencia leve de toxicidad. Por su parte, el IG fue inferior al 50% en la concentración 100% de la muestra HFSSH-Cl. Según Zucconi *et al.* (1981), un IG inferior al 50% es un indicador de toxicidad presente en la muestra. Esta reacción sumada a los bajos IG detectados en las semillas irrigadas con la muestra HFSSH-Cl a menores concentraciones puede estar relacionada con el efecto que puede tener el cloro (2.15 mg/L) y el aporte de la conductividad en el suelo (1278,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Un aumento en la conductividad por sobre los 2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ o en la salinidad ($\text{SAR} > 6$), puede generar una menor permeabilidad en el suelo lo que impide el paso tanto del agua como de la luz, elementos esenciales en el desarrollo de los cultivos lo cual se traduce en una menor germinación (~20%) (Ashraf *et al.*, 2004; Rengasamy *et al.*, 2006; Hamilton *et al.*, 2007; Dash, 2012).

La Figura 23 presenta el indicador de germinación para la especie *Triticum aestivum* que relaciona los datos de porcentaje de germinación relativo (PGR) con los datos de crecimiento de la radícula relativo (CRR).

La mayor variación de IG en las semillas de *Triticum aestivum* irrigadas con el efluente LA se obtuvo en la muestra LA-UV (Figura 23a). En los cultivos se observó un aumento en el tamaño de las raíces pero una reducción (50%) en los individuos germinados lo que se tradujo en un IG de 36% para la concentración 100%. Como el IG es inferior al 50% se presume que la muestra tuvo un efecto tóxico sobre la germinación (Zucconi *et al.*, 1989). La baja disponibilidad de nutrientes (N-NH_4^+) en los efluentes LA-UV y LA-Cl, genera el desarrollo de raíces más largas debido a la búsqueda de nutrientes por parte de éstas (Andriolo *et al.*, 2006). Este comportamiento justificaría el desarrollo de las raíces en dicho efluente sin embargo, la baja germinación solo podría atribuirse a variables externas asociadas al comportamiento del suelo como la intensidad de la luz, la temperatura, el pH y el suministro de Potasio (Guo *et al.*, 2007).

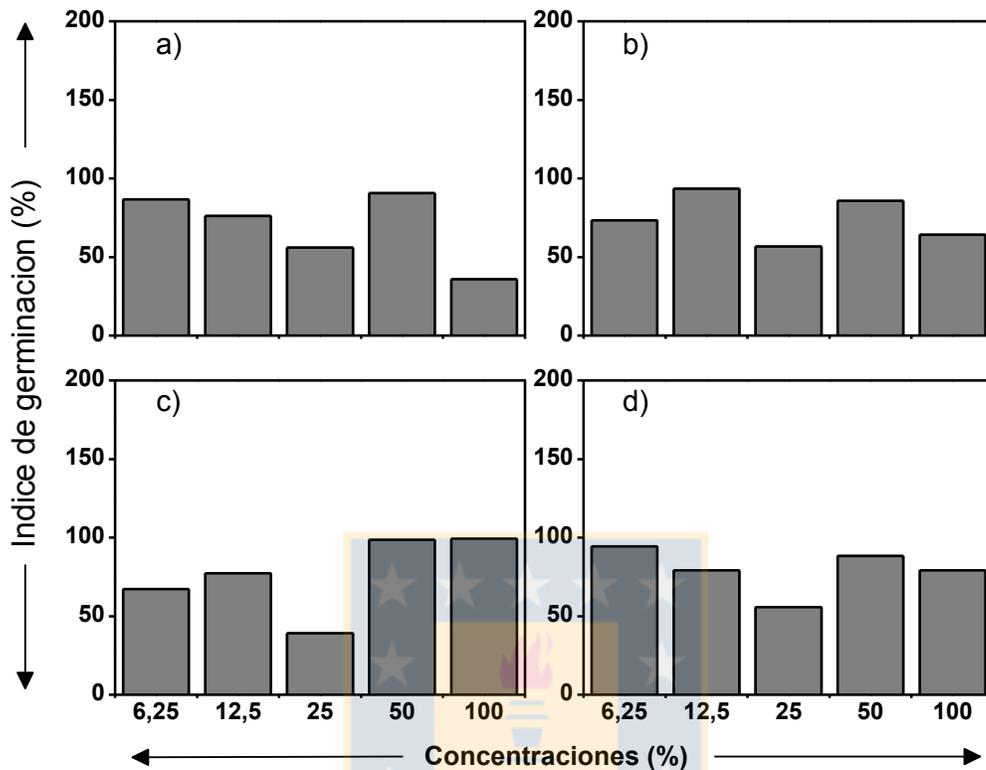


Figura 23. Indicadores de germinación de *Triticum* para el bioensayo en suelo. a) Muestra LA-UV, b) Muestra LA-Cl, c) Muestra HFSSH-UV y d) Muestra HFSSH-Cl.

Por su parte, en las semillas irrigadas con efluente HFSSH-UV (Figura 23c) se obtuvieron IG de 98% y 99% en las concentraciones 50% y 100%, respectivamente. Esto considerando las longitudes de raíz cercanas al control (variación de 0 y 5 mm, respectivamente) observadas y el PIG cercano a 0 obtenido, indica que la muestra afectó a las semillas de manera positiva aumentando el crecimiento y la germinación. Esto se contradice con el efecto descrito por Cox y Reisenauer (1973) y Tabatabaei *et al.* (2006), quienes indicaron que a bajas concentraciones de N-NH_4^+ (18-25 mg/L), se observan diferencias de crecimiento de hasta un 70%. Dichas condiciones son diferentes a las detectadas en el efluente HFSSH. Sin embargo, en otras investigaciones se ha evidenciado

que un aumento en la conductividad del orden 2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ puede afectar la permeabilidad del suelo, debido a la variación de los equilibrios iónicos por el cambio en la carga catiónica o aniónica (Hamilton *et al.*, 2007; Rengasamy, 2010). Dicho aumento sumado a la baja retención de las formas de nitrógeno en algunos tipos de suelo (Hermon *et al.*, 2006) podría traducirse en una reducción en la proporción disponible de N-NH_4^+ , alcanzando la concentración de este niveles en los que se obtiene un efecto positivo en la germinación.



6. CONCLUSIONES

- 1- Los efluentes LA-UV y HFSSH-UV cumplieron con las condiciones de calidad de agua para reusó en cultivos alimentarios consumibles procesados o no consumibles definidos por la U.S.EPA (2012). Dichos parámetros son DBO₅, SST, Coliformes fecales y pH.
- 2- La muestra LA-UV cumplió con las condiciones de calidad de agua para riego descritas por la NCh. 1333 (Modf. 1987). Dichos parámetros son DBO₅, SST, Coliformes fecales, pH y conductividad.
- 3- El bioensayo en placas indicó que la especie *Raphanus sativus* se ve estimulada por el aporte de nitrógeno de las distintas muestras lo que se traduce en aumentos del índice de germinación entre 99-151% para irradiación UV. Sin embargo, en la desinfección por cloro el IG se redujo entre 55-87%. Por su parte, la especie *Triticum aestivum* demostró ser sensible a la aplicación de los efluentes principalmente por la presencia de nitrógeno. Solo en la muestra HFSSH-Cl se observaron índices de germinación de 108%, 98% y 97%, sin embargo estos se dieron en las concentraciones 6.25%, 12,5% y 25% respectivamente.
- 4- El bioensayo en suelo indicó que la especie *Raphanus sativus* se ve estimulada en el crecimiento del epicótilo por los efluentes HFSSH-UV y HFSSH-Cl con crecimientos superiores a la media en un 16 y 14%, respectivamente. Pero la germinación se vio afectada en la muestra HFSSH-Cl en un 50%, debido al efecto de la conductividad y el aumento en la salinidad. Por su parte, los índices de germinación obtenidos para la especie *Triticum aestivum* indican una influencia positiva sobre la germinación y desarrollo de la semilla en los efluente HFSSH-UV y HFSSH-Cl, pero para este último, solo en los casos en que este se encontraba en dilución.
- 5- La hipótesis se acepta parcialmente ya que si bien se cumplieron los parámetros de riego solo en la muestra LA-UV, los índices de germinación

más altos se dieron en las semillas irrigadas con los efluentes de HFSSH, principalmente HFSSH-UV.



7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrol, I., Yadav, J., y Massoud, F. (1988). Salt-affected soils and their management (No. 39). Food y Agriculture Org.
- Acevedo, L. (2015). Evaluación de procesos de desinfección (Cloro y UV) en sistemas de tratamiento de aguas servidas descentralizados (Humedales construidos). Habilitación para optar a título de Ingeniero Ambiental. Universidad de Concepción.
- Adonadaga, M. (2014). Nutrient removal efficiency of activated sludge plants treating industrial and municipal wastewater in Ghana. *Journal of Environment Pollution and Human Health*, 2(3), 58-62.
- Aguiar, L., Andrade-Vieira, L., y de Oliveira David, J. (2016). Evaluation of the toxic potential of coffee wastewater on seeds, roots and meristematic cells of *Lactuca sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133, 366-372.
- Ahmed, S., Popov, V., y Trevedi, R. (2008). Constructed wetland as tertiary treatment for municipal wastewater. In *Proceedings of the Institution of Civil Engineers-Waste and Resource Management* (Vol. 161, No. 2, pp. 77-84). Thomas Telford Ltd.
- Andrade, L., Davide, L. y Gedraite, L. (2010). The effect of cyanide compounds, fluorides, aluminum, and inorganic oxides present in spent pot liner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73: 626-631.
- Andriolo, J., Godoi, R., Cogo, C., Bortolotto, O., da Luz, G., y Madaloz, J. (2006). Growth and development of lettuce plants at high NH₄⁺: NO₃⁻ ratios in the nutrient solution. *Horticultura brasileira*, 24(3), 352-355.
- Angelakis, A., y Gikas, P. (2014). Water reuse: overview of current practices and trends in the world with emphasis in EU states. *Water Util. J.*, 6, 67-78.
- APHA, AWWA, AEF, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th edn. Washington, DC.

- Arias I., Carlos A.; Brix, H. (2003). Humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales
- Ashraf, M. (2004). Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora*, 199, 361–376.
- Aslam, M., Baig, M., Hassan, I., Qazi, I., Malik, M., y Saeed, H. (2004). Textile wastewater characterization and reduction of its COD and BOD by oxidation. *EJEAF Che*, 3(6), 804-811.
- Bagur-González, M. G., Estepa-Molina, C., Martín-Peinado, F., y Morales-Ruano, S. (2011). Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal (loid) s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. *Journal of Soils and Sediments*, 11(2), 281-289.
- Bamgbose, I., y Anderson, T. (2015). Phytotoxicity of three plant-based biodiesels, unmodified castor oil, and Diesel fuel to alfalfa (*Medicago sativa* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.), radish (*Raphanus sativus*), and wheatgrass (*Triticum aestivum*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 122, 268-274.
- Bewley, J. (1997). Seed germination and dormancy. *The plant cell*, 9(7), 1055.
- Billore, S., Singh, N., Sharma, L Dass, P., Nelson, R., (1999). Horizontal subsurface flow constructed wetland with phragmites karka-gravel in central India.
- Blasco-Zumeta, J. (2013). FLORA DE LA RIBERA BAJA DEL EBRO. FAMILIA GRAMINEAE. Ribera Baja del Ebro.
- Bojovic, B., Đelic, G., Topuzovic, M., y Stankovic, M. (2010). Effects of NaCl on seed germination in some species from families Brassicaceae and Solanaceae. *Kragujevac Journal of Science*, 32, 83-87.

- Brix, H., Schierup, H., Arias, C.A., 2007. Twenty years experience with constructed wetland system in Denmark – what did we learn?. *Water Sci. Technol.* 56 (3), 63-68.
- Carey, R., y Migliaccio, K. (2009). Contribution of wastewater treatment plant effluents to nutrient dynamics in aquatic systems: a review. *Environmental Management*, 44(2), 205-217.
- Carmona, M., Gassen, D., Scandiani, M. (2007). Síntomas de toxicidad en soja Conocerlos Para Evitar Confusiones.
- Carranza, C., Lancho, O., Miranda, D., y Chaves, B. (2009). Análisis del crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.) 'Batavia' cultivada en un suelo salino de la Sabana de Bogotá. *Agronomía Colombiana*, 27(1), 41-48.
- Caselles-osorio, A., Puigagut, J., Seguí, E., García, D., García, J., (2007). Solids accumulation in six full-scale subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 41:388–1398.
- Chartier, C., López, D., y Vidal, G. (2014). Anaerobic Technology Influence on Pig Slurry Biofertilization: Evaluation of Enteric Bacteria. *Water, Air, y Soil Pollution*, 225(1), 1790.
- Chen, Z., Ngo, H., y Guo, W. (2013). A critical review on the end uses of recycled water. *Critical reviews in environmental science and technology*, 43(14), 1446-1516.
- Cleaner Production Program (CPP), 1999. Revised national environmental quality standards (NEQS). <http://www.cpp.org.pk/legal/RevisedNEQS.pdf>.
- Comfort, S. and K. Frank. "pH and Liming." 2000. p 51-58. In R. Ferguson (ed) *Nutrient Management for Agronomic Crops in Nebraska*, EC155. University of Nebraska–Lincoln Extension, Lincoln, NE.
- Contreras, S., Tay, D., y Bennett, M. (2006). Effects of Temperature During Seed Development in *Lactuca sativa* and *Helianthus debilis*. *HortScience*, 41(4), 1070-1070.

- Cornejo, A. (2011). Manual técnico: Producción artesanal de semilla de hortalizas para huerta familiar. FAO.
- Cox, W. J., y Reisenauer, H. M. (1973). Growth and ion uptake by wheat supplied nitrogen as nitrate, or ammonium, or both. *Plant and Soil*, 38(2), 363-380.
- Crites, R., Middlebrooks, J., Reed, S. (2006). *Natural Wastewater Treatment Systems*.
- Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez, L., Andrade, M. (2010). Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales.
- Dizer, H., Bartocha, W., Bartel, H., Seidel, K., Lopez-Pila, J. y Grohmann, A. (1993). Use of ultraviolet radiation for inactivation of bacteria and coliphages in pretreated wastewater. *Water Research*, 27(3), 397-403.
- Duncan, R., Carrow, R. y Huck, M., (2009). *Turfgrass and Landscape Irrigation Water Quality: Assessment and Management*. CRC Press.
- Farooq, S., Hashmi, I., Qazi, I. A., Qaiser, S., y Rasheed, S. (2008). Monitoring of coliforms and chlorine residual in water distribution network of Rawalpindi, Pakistan. *Environmental monitoring and assessment*, 140(1), 339-347.
- Fernández, B., Seijo, I., Ruiz-Filippi, G., Roca, E., Tarenzi, L. y Lema, J. (2007). Characterization, management and treatment of wastewater from white wine production. *Water science and technology*, 56(2), 121-128.
- García, J. y Corzo, A. (2008). *Guía Práctica de Diseño, Construcción y Explotación de Sistemas de Humedales de Flujo Subsuperficial*.
- Garcia, J., Aguirre, P., Mujeriego, R., Huang, Y., Ortiz, L., y Bayona, J. (2004). Initial contaminant removal performance factors in horizontal flow reed beds used for treating urban wastewater. *Water Research*, 38(7), 1669-1678.

- Grant, W. (1999). Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals.
- Guo, S., Zhou, Y., Shen, Q. y Zhang, F. (2007). Effect of ammonium and nitrate nutrition on some physiological processes in higher plants-growth, photosynthesis, photorespiration, and water relations. *Plant Biology*, 9(01), 21-29.
- Hamilton, A. J., Stagnitti, F., Xiong, X., Kreidl, S. L., Benke, K. K., y Maher, P. (2007). Wastewater irrigation: the state of play. *Vadose zone journal*, 6(4), 823-840.
- Havlin, J.L., J.D. Beaton, S.L. Tisdale and W.L. Nelson, 1999. *Soil Fertility and Fertilizers*, 6th ed. Prentice Hall. P 47.
- Helmreich, B., Schreff, D., y Wilderer, P. A. (2000). Full scale experiences with small sequencing batch reactor plants in Bavaria. *Water Science and Technology*, 41(1), 89-96.
- Henze, M., Harremoes, P., Jansen, J., Arvin, E., (2002). *Wastewater treatment; Biological and Chemical Processes*, in *Environmental Engineering*. (Henze, M. Ed.) Springer-Verlag, Heidelberg. 28pp.
- Hermon, K., Allinson, G., Stagnitti, F. y Armstrong R. (2006). Improving Water Use Efficiency of Vineyards in the Great Western Region by using effluent water and soil amelioration practices. p.20. Final report to Grape and Wine Research and Development Corporation (GWRDC).
- Hodges, S. C., y Crozier, C. (1996). *Soil fertility basics: NC certified crop advisor training*. Soil Science Extension, North Carolina State University. 75p.
- Hong, C., Richardson, P., Kong, P. y Bush, E. (2003). Efficacy of chlorine on multiple species of *Phytophthora* in recycled nursery irrigation water. *Plant Disease*, 87(10), 1183-1189.

- Horneck, D. A., Sullivan, D. M., Owen, J. S., y Hart, J. M. (2011). Soil test interpretation guide. [Corvallis, Or.]: Oregon State University, Extension Service.
- Ibrahim, S., Kiran, A., Rashid, M., Yamin, S., Zarlish, A., Munir, S. y Tehreem, R. (2015). The efficacy of chlorinated water used for irrigation purpose on plant initial growth. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(4), 17.
- Instituto Nacional de Estadística (INE) (2002). Glosario de términos de demografía y estadísticas vitales. Recuperado en: <http://palma.ine.cl/demografia/menu/glosario.pdf>
- Instructional Materials Service. (2001). COMPONENTS AND PROPERTIES OF SOIL. Texas A&M University. College Station, Texas, USA.
- Jampeetong, A., y Brix, H. (2009). Effects of NH₄⁺ concentration on growth, morphology and NH₄⁺ uptake kinetics of *Salvinia natans*. *Ecological Engineering*, 35(5), 695-702.
- Jones, C., y Olson-Rutz, K. (2016). Plant nutrition and soil fertility. Nutrient management module N°2. Montana State University.
- Jungk, A. (2001). Nutrient movement at the soil–root interface its role in nutrient supply to plants. *RC Suelo Nutr Veg*, 1(1), 1-18.
- Kadlec, R. y Wallace, S. (2009). *Treatment Wetlands*. Florida: Taylor y Francis Group.
- Kato, T., Saito, N., Kashimura, K., Shinohara, M., Kurahashi, T. y Taniguchi, K. (2002). Germination and growth inhibitors from wheat (*Triticum aestivum* L.) husks. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(22), 6307-6312.
- Keffala, C., y Ghrabi, A. (2005). Nitrogen and bacterial removal in constructed wetlands treating domestic waste water. *Desalination*, 185(1), 383-389.

- Kulhavy, J., Suchomel, J. and Mensik, L. (2014). Forest Ecology. Textbook. Mendel University. Brno, Czech Republic
- Lamhamdi, M., Bakrim, A., Aarab, A., Lafont, R. y Sayah, F. (2011). Lead phytotoxicity on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth. *Comptes rendus biologies*, 334(2), 118-126.
- Lasso, J. y Ramírez, J. (2011). Perspectivas generales del efecto del reúso de aguas residuales para riego en cultivos para la producción de biocombustibles en Colombia. *El Hombre y la Máquina*, 36, 95-105.
- Lee, W. y Westerhoff, P. (2009). Formation of organic chloramines during water disinfection–chlorination versus chloramination. *Water research*, 43(8), 2233-2239.
- Lettinga, G., Rebac, S. y Zeeman, G. (2001). Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *Trends in biotechnology*, 19(9), 363–370.
- Li, C., Feng, S., Yun, S., JIANG, L., LU, X. y HOU, X. (2007). Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings. *Journal of Environmental Sciences*, 19(6), 725-732
- López, A., Pollice, A., Lonigro, A., Masi, S., Palese, A., Cirelli, G. L. y Passino, R. (2006). Agricultural wastewater reuse in southern Italy. *Desalination*, 187(1-3), 323-334.
- López, D., (2016). Evaluación estacional de humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial para la depuración de aguas servidas en zonas rurales: implicancias en la generación de metano. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Ambientales, Universidad de Concepción, Chile. Pp. 216.
- Lubello, C., Gori, R., Nicese, F. y Ferrini, F. (2004). Municipal-treated wastewater reuse for plant nurseries irrigation. *Water Research*, 38(12), 2939-2947.

- Lyu, S., Chen, W., Zhang, W., Fan, Y. y Jiao, W. (2016). Wastewater reclamation and reuse in China: Opportunities and challenges. *Journal of Environmental Sciences*, 39, 86-96.
- Mæhlum, T. y Stalnacke, P., (1999). Removal efficiency of three cold-climate constructed wetlands treating domestic wastewater: Effects of temperature; seasons; loading rates and input concentrations.
- Mamo, M, C. Wortmann and C. Shapiro. 2003. Lime Use for Soil Acidity Management. G1504. University of Nebraska–Lincoln Extension, Lincoln, NE.
- Mara, D., y Horan, N. J. (Eds.). (2003). Handbook of water and wastewater microbiology. Academic press.
- Marchese, M., Tuttobene, R., Restuccia, A., Longo, A., Mauromicale, G. y Restuccia, G. (2008). Effects of electrical conductivity of irrigation water on the growth and production of *Solanum lycopersicum* L. var. cerasiforme grown in greenhouse. *Options Méditerranéennes*, 84, 311-315.
- McCauley, A., Jones, C., y Jacobsen, J. (2009). Soil pH and organic matter. Nutrient management module N°8. Montana State University.
- McCauley, A., Jones, C., y Olson-Rutz, K. (2017). Soil pH and Organic Matter. Nutrient management module N°2. Montana State University.
- Mendoza-Espinosa, L., Cabello-Pasini, A., Macias-Carranza, V., Daessle-Heuser, W., Orozco-Borbon, M. y Quintanilla-Montoya, A. L. (2008). The effect of reclaimed wastewater on the quality and growth of grapevines. *Water Science and Technology*, 57(9), 1445-1450.
- Metcalf, Eddy. (1995). *Wastewater Engineering: Treatment, and Reuse*. McGraw-Hill, New York, USA, 1485 pp.
- Metcalf, Eddy. (2003). *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*. Editorial McGraw-Hill, New York. 27-118 pp.

- Mezzanotte, V., Antonelli, M., Citterio, S. y Nurizzo, C. (2007). Wastewater disinfection alternatives: Chlorine, ozone, peracetic acid, and UV light. *Water environment research*, 79(12), 2373-2379.
- Miller, A. J., y Cramer, M. D. (2005). Root nitrogen acquisition and assimilation. In *Root Physiology: from Gene to Function* (pp. 1-36). Springer Netherlands.
- Mohammad, M. y Mazahreh, N. (2003). Changes in soil fertility parameters in response to irrigation of forage crops with secondary treated wastewater. *Communications in soil science and plant analysis*, 34(9-10), 1281-1294.
- Mohammadi, G. y Mozafari, S. (2012). Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seed Germination under Salt Stress as Influenced by Priming. *The Philippine Agricultural Scientist*, 95(2).
- Molla, A., Shamsuddin, Z., Halimi, M., Morziah, M. y Puteh, A. (2001). Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* in laboratory systems. *Soil Biol. Biochem.* 33, 457–463.
- Molleda, P., Blanco, I., Ansola, G. y de Luis, E. (2008). Removal of wastewater pathogen indicators in a constructed wetland in Leon, Spain. *Ecol. Eng.* 33:252-257
- Mosse, K. P., Patti, A. F., Christen, E. W., y Cavagnaro, T. R. (2010). Winery wastewater inhibits seed germination and vegetative growth of common crop species. *Journal of hazardous materials*, 180(1), 63-70.
- Mullins, G., y Hansen, D. J. (2006). Basic Soil Fertility. *The Mid-Atlantic Nutrient Management Handbook*, 53.
- Namesny-Vallespir, A. y Vallespir, A. (1993). Post-recolección de hortalizas (No. 04; SB324. 85, N3.).
- Neuenschwander, A. (2010). El Cambio Climático en el sector Silvoagropecuario de Chile. Fundación para la innovación agraria. 123 pp.

- Nokes, R., Gerba C. y Karpiscak, M. (2003). Microbial water quality improvement by small scale on-site subsurface wetland treatment. *J. Environ. Sci. Health A. Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* 38: 1849-1855.
- Norton-Brandão, D., Scherrenberg, S. y van Lier, J. (2013). Reclamation of used urban waters for irrigation purposes—a review of treatment technologies. *Journal of environmental management*, 122, 85-98.
- Nyakang'o, L. y van Bruggen, M., (1999). Combination of a well functioning constructed wetland with a pleasing landscape design in Nairobi Kenya.
- Oliveira, S. (2006). Análise de desempenho e confiabilidade de estações de tratamento de esgotos. Análise de desempenho e confiabilidade de estações de tratamento de esgotos.
- Omura, T., Onuma, M., Aizawa, J., Umita, T. y Yagi, T. (1989). Removal efficiencies of indicator micro-organisms in sewage treatment plants. *Water Science and Technology*, 21(3), 119-124.
- Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD (1984). Guideline 208 'Terrestrial Plants Growth Test. Guidelines for testing of chemicals. OECD, Paris, France, p. 6
- Percival S., Yates M., Williams D., Chalmers R., Gray N. (2014). *Microbiology of Waterborne Diseases. Microbiological Aspects and Risks.* Elsevier Academic Press, 696 pp.
- Plaza de los Reyes, C., Vera, I., Salvato, M., Borin, M. y Vidal G. (2011). Consideraciones para la eliminación de nitrógeno en humedales. *Tecnología del Agua*, 31(330), 40-49.
- Quinonez-Diaz, M., Karpiscak M., Ellman E. y Gerba, C. (2001). Removal of pathogenic and indicator microorganisms by a constructed wetland receiving untreated domestic wastewater. *J. Environ. Sci. Health A. Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* 36: 1311-1320.
- Ramalho. (1996). *Introduction to wastewater treatment process. Second Edition.* Academic press, Londos, 705 pp.

- Rehman, A. y Bhatti, H. N. (2009). Textile effluents affected seed germination and early growth of some winter vegetable crops: a case study. *Water, air, and soil pollution*, 198(1-4), 155.
- Rengasamy, P. (2006). *Soil salinity and sodicity*. CSIRO Publishing.p. 125–138.
- Rengasamy, P. (2010). Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. *Functional Plant Biology*, 37(7), 613-620.
- Rivas Mijares, G. (1978). *Tratamiento de Aguas Residuales*. 20 Edición, Ediciones Vega, Venezuela.
- Rivera, R, Warren, A., Curds, C., Robles, E., Gutiérrez, A., Gallegos, E. y Caldeffin, A. (1997). The application of the root zone method for the treatment and reuse of high strength abattoir waste in Mexico.
- Rodríguez, I., Adam, G., y Durán, J. (2008). Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor en semillas. *Agricultura: Revista Agropecuaria*, 78(912), 836-842.
- Rodríguez, P. (2011). *Análisis de la Situación de las Aguas Servidas en Zonas Rurales de la IV, VI y RM de Chile y Proposición de un Sistema Sustentable para su Tratamiento*. Memoria para optar al título de ingeniero civil. Universidad de Chile, 151 pp.
- Rojas, K., Vera, I. y Vidal, G. (2013). Influence of season and species *Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus* on the removal of organic matter and nutrients contained in sewage wastewater during the start-up operation of the horizontal subsurface flow constructed wetland. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, (69), 285-299.
- Romero, J. (2004). *Tratamiento de Aguas Residuales (Tercera Edición)*. Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería, Bogotá, Colombia, 1248 pp.
- Roy, R., Finck, A., Blair, G. and Tandon, H. (2007). *Plant Nutrition for Food Security. A Guide for Integrated Nutrient Management*. By . Rome: Food

and Agriculture Organization of the United Nations (2006). *Experimental Agriculture*, 43(1), 132-132.

- Scott, R. y Tanner, C. (2005). "Influence of biofilm on removal of surrogate faecal microbes in a constructed wetland and maturation pond". *Water Science and Technology*, vol. 51, No. 9, pp. 315-22.
- Sharafi, K., Davil, M., Heidari, M., Almasi, A. y Taheri, H. (2012). Comparison of conventional activated sludge system and stabilization pond in removal of chemical and biological parameters. *International Journal of Environmental Health Engineering*, 1(1), 38.
- Sommer, R., Lhotsky, M., Haider, T. y Cabaj, A. (2000). UV inactivation, liquid-holding recovery, and photoreactivation of *Escherichia coli* O157 and other pathogenic *Escherichia coli* strains in water. *Journal of food protection*, 63(8), 1015-1020.
- Subsecretaria de Desarrollo Regional (SUBDERE) (2012). Resumen Catastro plantas de tratamiento de aguas servidas – Sector rural –Año 2012. Recuperado en: http://www.subdere.gov.cl/sites/default/files/documentos/catastro_plantas_tratamiento_aguas_servidas_sector_rural_ano_20121.pdf
- Sukumaran, D., Saha, R. y Saxena, R. (2015). Performance Evaluation of Prevailing Biological Wastewater Treatment Systems in West Bengal, India. *Applied Ecology and Environmental Sciences*, 3(1), 1-4.
- Superintendencia de Servicios Sanitarios (2015). Cobertura histórica del sector sanitario (Tratamiento de aguas servidas). Recuperado en: <http://www.siss.gob.cl/577/w3-article-3683.html>
- Superintendencia de Servicios Sanitarios (2015). Sistemas de tratamiento de aguas servidas (Tratamientos no convencionales). Recuperado en: <http://www.siss.gob.cl/577/w3-article-4373.html>
- Tabatabaei, S., Fatemi, L. y Fallahi, E. (2006). Effect of ammonium: nitrate ratio on yield, calcium concentration, and photosynthesis rate in strawberry. *Journal of Plant Nutrition*, 29(7), 1273-1285.

- Tandukar, M., Ohashi, A. y Harada, H. (2007). Performance comparison of a pilot-scale UASB and DHS system and activated sludge process for the treatment of municipal wastewater. *Water Research*, 41(12), 2697-2705.
- Tapia, R. (2012). Mecanismos de eliminación de patógenos en sistemas de tratamiento de aguas residuales. Memoria de la Tesis presentada para optar al grado de Doctor en Biología. Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental. Universidad de León. León, España
- Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'Antonio, C., Dobson, A., Howarth, R. y Swackhamer, D. (2001). Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*, 292(5515), 281-284.
- Tiquia, S. (2000). Evaluating phytotoxicity of pig manure from the pig on litter system. In *Proceedings of the International Composting Symposium*, CBA Press Inc. Truro, NS (pp. 625-647).
- Trujillo, A., de Flores, C., Valbuena, M., Herrera, L., Araujo, I., y Saules, L. (2000). Tratamiento de aguas residuales en el trópico mediante lagunas de estabilización y su reuso para riego agrícola XXVII Congreso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. AIDIS/ABES, Porto Alegre.
- U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) (1999). Folleto informativo de tecnología de aguas residuales: Desinfección con cloro. Office of Water, EPA 832-F-99-062, Washington, D.C., 9 pp.
- U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency).1999. Folleto informativo de tecnología de aguas residuales: Desinfección con luz ultravioleta. Office of Water, EPA 832-F-99-064, Washington, D.C., 9 pp.
- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency). 2002. Onsite Wastewater Treatment Systems Manual, EPA/625/R-00/008. Office of Water, Washington D.C., 367 pp.
- U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency). 2004. Primer for Municipal Wastewater Treatment Systems, EPA 832-R-04-001. Washington D.C., 30 pp.

- Umaña, E. (2007). El reuso de aguas residuales para riego en un cultivo de maíz (*Zea Mays* L.) Una alternativa ambiental y productiva.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA) (2012). Guidelines of water reuse. Office of water. Washington D.C.: US EPA
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (2012). Ecological Effects Test Guidelines: Seedling Emergence and Seedling Growth (OCSPP 850.4100),
- Vargas, C. (1996) Características microbiológicas de las aguas residuales. III Curso "Lagunas de estabilización". Teoría, diseño, construcción y operación, evaluación y mantenimiento.
- Vasquez-Montiel, O., Horan, N. y Mara, D. (1996). Management of domestic wastewater for reuse in irrigation. *Water Science and Technology*, 33(10-11), 355-362.
- Vera, I. (2012). Análisis de funcionamiento y patrones asociativos de sistemas de tratamiento convencionales y naturales de aguas servidas para la eliminación de materiales orgánicos y nutrientes. Trabajo de grado. Doctorado Ciencias Ambientales, Universidad de Concepción, Chile.
- Vera, I., García, J., Sáez, K., Moragas, L. y Vidal, G. (2011). Performance evaluation of eight years experience of constructed wetland systems in Catalonia as alternative treatment for small communities. *Ecological engineering*, 37(2), 364-371.
- Vera, I., Jorquera, C., López, D., y Vidal, G. (2016). Humedales construidos para tratamiento y reúso de aguas servidas en Chile: reflexiones. *Tecnología y Ciencias del Agua*, 7(3), 19-35.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, 255(2), 571-586.
- Vidal, G., Araya, F. (2014). Las aguas servidas y su depuración en zonas rurales: Situación actual y desafíos. Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental (GIBA). Universidad de Concepción, Chile.

- Villagarcia, M., Collins, W. y Raper, C. D. (1998). Nitrate uptake and nitrogen use efficiency of two sweet-potato genotypes during early stages of storage root formation. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123(5), 814-820.
- Villamar, C., Silva, J., Bay-Schmith, E., y Vidal, G. (2014). Toxicity identification evaluation of anaerobically treated swine slurry: A comparison between *Daphnia magna* and *Raphanus sativus*. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 49(11), 880-888.
- von Sperling, M. (2007). *Biological Wastewater Treatment. Volume 1: Wastewater characteristics, treatment and disposal*. IWA Publishing, London, England, 292 pp
- Vymazal, J. (2002). The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years experience. *Ecological Engineering*, 18(5), 633-646.
- Vymazal, J. (2005) Removal of enteric bacteria in constructed treatment wetlands with emergent macrophytes: A review. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 40:6-7, 1355-1367
- Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the total environment*, 380(1), 48-65.
- Vymazal, J. y Kröpfelova, L. (2008). Wastewater Treatment in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow.
- Wallace, S. y Knight, R. (2006). *Small-scale constructed wetland treatment systems: feasibility, design criteria and O y M requirements*. IWA Publishing.
- Wang, M. Y., Siddiqi, M. Y., Ruth, T. J., y Glass, A. D. (1993). Ammonium uptake by rice roots (II. Kinetics of $^{13}\text{NH}_4^+$ influx across the plasmalemma). *Plant physiology*, 103(4), 1259-1267.

- Wang, Z., Rui, Y., Shen, J. y Zhang, F. (2008). Effects of N fertilizer on root growth in *Zea mays* L. seedlings. Spanish Journal of Agricultural Research (España).
- Wanner, J. (1997). Microbial population dynamics in biological wastewater treatment plants. Microbial Community Analysis: The Key to the Design of Biological Wastewater Treatment Systems. Scientific and Technical Report, IAWQ, England.
- Weber, K. y Legge, R. (2008). Pathogen removal in constructed wetlands. Wetlands: Ecology, Conservation and Restoration. Nova Publishers: New York, NY, USA, 176-211.
- Wu, S., Carvalho, P., Müller, J., Manoj, V. y Dong, R. (2016). Sanitation in constructed wetlands: a review on the removal of human pathogens and fecal indicators. Science of the Total Environment, 541, 8-22.
- ZDragas, A. (2002). The Effect of Environmental Conditions on the Ability of a Constructed Wetland to Disinfect Municipal Wastewaters
- Zhang, D. Q., Jinadasa, K. B. S. N., Gersberg, R. M., Liu, Y., Ng, W. J., y Tan, S. K. (2014). Application of constructed wetlands for wastewater treatment in developing countries—a review of recent developments (2000–2013). Journal of environmental management, 141, 116-131.