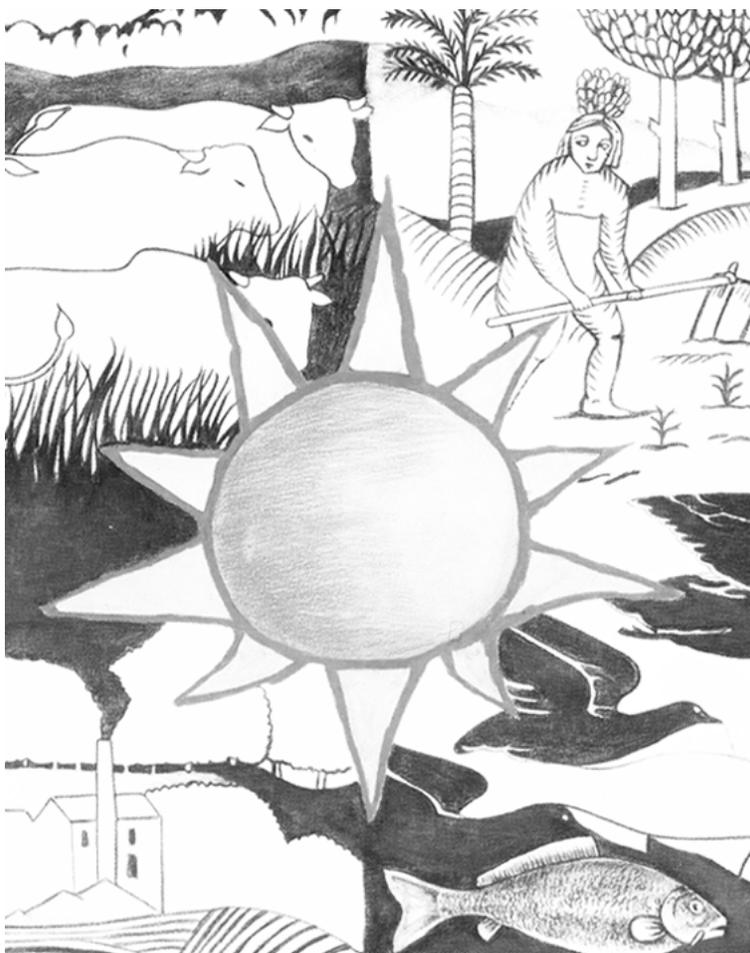


**REMEDIACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR NITRATOS EN EL SUELO:  
ANTECEDENTES GENERALES Y PERTINENCIA EN ZONA SUR DE CHILE**

Remediation of nitrate pollution in soil: general background and relevance in southern Chile

*Alejandra Sepúlveda<sup>1\*</sup>, Edgardo González<sup>2</sup> & Carolina Inostroza<sup>1</sup>*



<sup>1</sup>Universidad Católica de Temuco, Facultad de Recursos Naturales, Escuela de Ciencias Ambientales, Casilla 15-D, Temuco, Chile. <sup>2</sup>Universidad Católica de Temuco, Facultad de Recursos Naturales, Escuela de Agronomía, Casilla 15-D, Temuco, Chile. Correos electrónicos: asepulve@uct.cl, egonzalez@upacifico.cl, carolinainostroza@gmail.com

### **RESUMEN**

La intensificación de la producción agrícola, ganadera y acuícola en las regiones de La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos, ha ocasionado impactos negativos en los agroecosistemas, constatándose en muchos suelos agrícolas y cursos de agua acumulaciones importantes de nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) y agroquímicos. La reducción completa del  $\text{NO}_3^-$  a nitrógeno gaseoso ( $\text{N}_2$ ) vía la ruta de desnitrificación, realizada por bacterias edáficas heterótrofas en condiciones anaeróbicas, es sujeto de gran relevancia económica y medioambiental, considerando el efecto de este proceso en la reducción de la lixiviación de  $\text{NO}_3^-$  hacia aguas subterráneas. El uso de métodos de remediación de  $\text{NO}_3^-$  y otros contaminantes presentes en el suelo permite recuperar agroecosistemas contaminados o en riesgo de contaminación.

Palabras claves: remediación, biorremediación, suelos, nitrato, desnitrificación

### **ABSTRACT**

The intensification of agricultural production, livestock and aquaculture in regions of La Araucanía, Los Ríos and Los Lagos, has provoked negative impacts on agroecosystems which has been confirmed as significant accumulations of nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) and agrochemicals in agricultural soils and waterways. The reduction of  $\text{NO}_3^-$  to nitrogen gas ( $\text{N}_2$ ) via denitrification route, carried out by heterotrophic soil bacteria under anaerobic conditions is a subject of great economic and environmental significance, considering the effect of this process in reducing  $\text{NO}_3^-$  leaching into groundwater. The use of remediation methods to remove  $\text{NO}_3^-$  and other contaminants in soils helps to remediate already polluted agroecosystems and other under risks.

Key words: remediation, bioremediation, soils, nitrate, denitrification

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, las pérdidas de nitrógeno (N) desde los suelos se han incrementado desde la revolución industrial debido a la aplicación creciente de N vía fertilizantes inorgánicos y enmiendas orgánicas (Van den Heuvel 2010). Así, el aumento de la producción agrícola ha ocasionado impactos negativos en los agroecosistemas, constatándose en muchos suelos agrícolas acumulaciones importantes de nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ), pesticidas y otros agroquímicos (Bouwman et al. 2002). Respecto al  $\text{NO}_3^-$ , principalmente su origen en el suelo se debe a: (1) contaminación atmosférica y (2) aplicación al suelo de fertilizantes nitrogenados de origen natural y sintético, de residuos orgánicos provenientes de plantales ganaderos estabulados, de lodos de depuradoras, de vertidos de actividades industriales, de vertederos no controlados, etc. (Biederbeck et al. 1996, Hornsby 2000, Pacheco & Cabrera 2003, Merino 2004).

Este exceso de N disponible en suelos genera movimiento de nitrógeno inorgánico (N-nitrato) descendente más allá de la zona radicular, generándose una elevada pérdida de éste vía lixiviación de  $\text{NO}_3^-$  hacia aguas subterráneas y posterior recirculación en aguas superficiales. En suelos en donde se han incorporado fertilizantes nitrogenados, entre el 80 y el 90% del N lixiviado corresponde a  $\text{NO}_3^-$  (Mahli & Nyborg 1986, Baker 1992, Kahl et al. 1993, Luo et al. 2000, EPA 2005). Por lo demás, estas pérdidas elevadas se relacionan fuertemente con el tipo de clima de los ecosistemas, dado que en zonas con balances hídricos tendientes a un exceso de agua (precipitación mayor que la evapotranspiración potencial) se favorecen los procesos de lixiviación (Ranjan et al. 2006, Wilcox & Thurow 2006, Jordan et al. 2008).

Por consiguiente, la concentración de  $\text{NO}_3^-$  aportados al suelo y su lixiviación al agua

subterránea es un tópico común en el análisis de calidad hídrica (Pacheco & Cabrera 2003). Al respecto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que el nivel de  $\text{NO}_3^-$  de fuentes hídricas procedentes de aguas subterráneas para consumo humano, no supere el límite de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  (OMS 1980). La toxicidad por  $\text{NO}_3^-$  en humanos es principalmente atribuida a su reducción a  $\text{NO}_2^-$ . En el cuerpo, el principal efecto biológico del  $\text{NO}_2^-$  está asociado a la oxidación de la hemoglobina normal a metahemoglobina, la cuál es incapaz de transportar oxígeno a los tejidos; ésta condición -denominada metahemoglobinemia- causa cianosis y, en concentraciones mayores, asfixia, síndrome conocido como niños azules (OMS 2007).

Hasta hace algunos años, el foco mundial de atención en relación a la contaminación de cursos de agua era su contaminación directa; sin embargo, en la actualidad existe una creciente preocupación por la contaminación agraria difusa, principalmente desde predios agrícolas (Jarvis 2002). Ésta, puede ser definida como la introducción de contaminantes a un curso de agua superficial o subterráneo, a través de vías indirectas y desde fuentes que son difíciles de identificar con exactitud. La contaminación difusa puede ser continua o intermitente, siendo esta última más común debido a que está relacionada a actividades estacionales propias de la agricultura, como la época de fertilización o fenómenos ocasionales como la ocurrencia de altas precipitaciones (Carpenter et al. 1998).

La contaminación de los recursos hídricos superficiales y subterráneos con residuos de origen doméstico, industrial y agropecuario, es uno de los principales problemas ambientales del sur de Chile, debido a que en esta área las aguas superficiales y subterráneas son una importante fuente de agua de bebida y de otras actividades económicas como la acuicultura y el turismo (CONAMA 1998). A pesar de la

importancia del rubro pecuario y del conocimiento técnico disponible sobre el mismo, existe escasa información cuantitativa sobre el impacto ambiental de las actividades agrícolas, especialmente del efecto de éstas hacia cursos de agua (Alfaro & Salazar 2005). Actualmente, no se cuenta con estudios suficientes que permitan determinar el impacto ambiental negativo relativo al aporte proporcional de cada fuente de nutrientes, tales como aguas servidas, agricultura, acuicultura, agroindustria y minería (Cancino et al. 1997, Goecke 2006).

Atendiendo a la problemática planteada, la remediación de suelos mediante técnicas de fito y biorremediación, representa una alternativa ambientalmente sustentable y que permite dar valor agregado al sistema de producción agropecuario y a los productos finales, al estar en sintonía con los requerimientos actuales de los mercados en relación a minimizar los impactos ambientales negativos derivados de las actividades productivas agrícolas y ganaderas. En este contexto, el presente trabajo hace énfasis en la susceptibilidad a contaminación por  $\text{NO}_3^-$  en el sur de Chile, describiéndose las técnicas de remediación existentes para reducir la contaminación de suelos y aguas.

#### *Situación de la contaminación por nitratos en el mundo*

La contaminación difusa de  $\text{NO}_3^-$  al agua es uno de los factores causantes de la degradación de los recursos hídricos. En determinadas cuencas hidrográficas, el aporte difuso de nitrógeno representa más del 50% del N total de la cuenca (Machefer & Dise 2004). Debido a esto, muchos países han iniciado cambios legislativos que permitan regular los aportes de N desde las explotaciones agrícolas y ganaderas, así como

el manejo adecuado de los residuos ganaderos. No obstante, según estimaciones de Ramankutty et al. (2008) respecto a la aplicación global de fertilizantes nitrogenados, la mayor intensidad se observa en Estados Unidos, Europa, el norte de India y el este de China, con dosis de  $200 \text{ kg ha}^{-1}$  aproximadamente (Parodi 2010). En la década 1990-2000, los países no desarrollados y en vías de desarrollo incrementaron el consumo de fertilizantes nitrogenados en un 4.5% año, un ejemplo alarmante lo constituye Argentina, con un incremento del 27% anual en el uso de fertilizantes (Millarium 2004).

En Europa, la contaminación de suelos y aguas por  $\text{NO}_3^-$  proveniente de prácticas agrícolas tradicionales es un problema ambiental relevante. Es por ello, que el Consejo Europeo aprobó, el 30 de junio de 1992, el Reglamento 2078/92 donde se establecen las normas sobre los métodos de producción agrícola compatibles con las exigencias de protección del medio ambiente y la conservación del espacio natural (Gardner 1999). Además, con el fin de reducir el problema de la contaminación por nitratos y adoptar medidas preventivas que eviten futuras contaminaciones por este origen, el Consejo Europeo aprobó el 12 de diciembre de 1991, la Directiva 91/676/CEE, relativa a la protección de las aguas, mediante la reducción de la contaminación provocada por  $\text{NO}_3^-$  de origen agropecuario y mediante la prevención ante nuevas fuentes de este tipo de contaminación (Ortuzar et al. 2003).

Innumerable literatura estadounidense refuerza la importancia de preservar y recuperar la calidad de los recursos hídricos, en especial aquellas aguas subterráneas contaminadas con  $\text{NO}_3^-$ , vinculando los conceptos de manejo eficiente y racional de los fertilizantes nitrogenados (Böhlke 2003, Böhlke et al. 2004, Oren et al. 2004, McMahon et al. 2006), considerándose a la agricultura

como fuente principal de deterioro de los ríos y lagos estadounidenses. Se han documentado problemas por la excesiva acumulación de  $\text{NO}_3^-$  (procedentes de actividades urbanas e industriales) en acuíferos abastecidos por napas subterráneas, presentando concentraciones de entre 50 a 130  $\text{mg NO}_3^- \text{L}^{-1}$ , como en el caso de la Región de Shijiazhuang China, (Tang et al. 2004). En España, se considera relevante la problemática de la contaminación por nitratos de origen agropecuario, por lo que desde el año 2007 se ha llevado a cabo una prospección que contempla diferentes temáticas, entre las que destacan: la revisión de la legislación vigente, prácticas analíticas realizadas para optimizar el aporte de  $\text{NO}_3^-$ , ensayos para el reconocimiento específico de las extracciones de N por especie vegetal, estimaciones del nivel de cumplimiento de los registros relativos a fertilización, etc. (Millarium 2004). En Argentina, en las áreas peri-urbanas y rurales de Buenos Aires se observó que, tanto las actividades hortícolas intensivas como las agrícolas extensivas, pueden conducir a aportes importantes de  $\text{NO}_3^-$  hacia el subsuelo (Rimski-Korsakov et al. 2004).

#### *Susceptibilidad a contaminación por nitrato en el sur de Chile*

##### La producción animal y el aporte de nitrógeno

En Chile, la masa ganadera bovina alcanza a 3.7 millones de cabezas (INE 2007), habiéndose mantenido relativamente constante en los últimos años. Sin embargo, los nuevos acuerdos comerciales logrados con la Comunidad Europea, Estados Unidos, México y otros países, representan un potencial de desarrollo para este sector productivo. En este marco, el Programa de Desarrollo Ganadero

del Gobierno de Chile, establece tres objetivos: i) aumentar la existencia de ganado y la producción de carne, ii) desarrollar y diversificar los atributos de su calidad, y iii) focalizar la producción y realizar alianzas estratégicas. Se espera que el cumplimiento del primer lineamiento demande los mayores cambios tecnológicos en los sistemas tradicionales de producción de carne. Dichos cambios se relacionan con la incorporación de mejores prácticas ganaderas que aseguren el incremento de la productividad de los sistemas, considerando aspectos de protección ambiental (Iraira et al. 2004).

Las regiones de Los Ríos y de Los Lagos producen en conjunto el 65% de la leche nacional y el 45% de la carne en sistemas de producción basados en pastoreo de praderas naturales y mejoradas. Por ello, se ha observado un incremento en el uso de fertilizantes nitrogenados y fosforados, en los últimos 10 años (Alfaro & Salazar 2005, INE 2007). Hasta el año 2007, en la Región de Los Lagos, se concentraba el 28% del total de cabezas de ganado bovino existentes en el país (INE 2007). Por su parte, las regiones de La Araucanía y de Los Ríos reúnen cifras cercanas a las 668 mil (18%) y las 621 mil (17%) cabezas de ganado, respectivamente (INE 2007). Debido a este aumento en la masa ganadera en las tres regiones mencionadas y a la escasez de normas tendientes a proyectar, controlar y orientar el empleo y manejo de los residuos derivados de estas explotaciones, existe un potencial de contaminación de suelos por nitratos y eutroficación de cursos de agua, que puede incrementarse en el futuro. El mayor riesgo de contaminación estaría dado por la falta de adecuadas prácticas de manejo en los predios. Asimismo, queda en evidencia la falta de información nacional y de investigación en esta área de estudio. Por ello, se deben implementar en el corto y mediano plazo sistemas «ambientalmente consientes», ya que

la eutroficación de ríos y lagos en el sur de Chile puede aumentar, con mayores costos de producción asociados a los sistemas ganaderos, debido a la menor eficiencia en el uso de las enmiendas orgánicas y a la necesidad de incorporar estrategias de remediación y/o buenas prácticas a nivel predial (Alfaro & Salazar 2005).

En la intensificación de los sistemas de producción de ganado se concentra uno de los mayores efectos perjudiciales sobre el medio ambiente, asociados con contaminación del aire por emisión de metano y del agua, mediante liberación de nitrógeno y fósforo, además de las pérdidas derivadas de los purines (Blanco 2008). Del forraje consumido por animales (vacunos, ovinos, cerdos, etc.), sólo una quinta parte es utilizada en el mantenimiento o incremento de peso y producción, el residual, es eliminado en el estiércol y la orina. La variación en la composición del estiércol depende de la especie animal, de su alimentación, contenido de materia seca (estado fresco o secado) y del manejo. En general, se puede considerar que el estiércol contiene: 0.5 % de N, 0.25 % de Fósforo (P) y 0.5 % de Potasio (K). Al estar expuesto a la intemperie, el estiércol pierde en general su valor como abono fertilizante al suelo (González & Sandoval 2005).

La eficiencia de utilización de N por vacas lecheras es de 15 a 20%, alcanzando como máximo un 43%. En sistemas de producción de leche basado en pastoreo, el superávit obtenido en el balance global de N en la explotación es moderado, 135 kg N ha<sup>-1</sup> y las pérdidas por lixiviación de nitrato representan el 20 y el 36 % del N en exceso (Mary et al. 1999).

Aunque las pérdidas de nutrientes hacia el ambiente se pueden producir en la excreción de fecas y orina por los animales a pastoreo, es en el manejo de los residuos orgánicos

durante la estabulación de animales, almacenamiento y aplicación al suelo, donde existe mayor interacción. Al aplicar dosis altas de purines o aguas sucias de lecherías se pueden escurrir los nutrientes o sólidos directamente a cursos de agua, o incrementar los niveles de nutrientes en los horizontes superficiales de suelo, los cuales, adheridos a partículas de suelo, también pueden alcanzar los cursos de agua vía erosión (Salazar 2005).

Se considera que la estructura y contenido de materia orgánica de los suelos son factores importantes en relación con la lixiviación de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Deben considerarse condiciones como las propiedades mineralógicas del suelo, la velocidad de aplicación del flujo de agua y su intensidad, la concentración de nitratos aplicada, el grado de saturación de los nitratos, la densidad aparente, la heterogeneidad de los materiales adsorbentes del suelo y el pH, entre otras, si se desean entender mejor las diferencias entre suelos en su capacidad para retención de nitrato y otros aniones (Mary et al. 1999, Arias et al. 2004).

#### La producción agrícola y el aporte de nitrógeno

Cuando se fertiliza, se busca que el nutriente aplicado sea utilizado en su totalidad por el cultivo. Sin embargo, es frecuente que las plantas no absorban todo el N disponible, pudiendo éste lixiviar por debajo de la zona radical y elevar la concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en las napas freáticas (Yadav 1997). El N proveniente del fertilizante, como así también el disponible en el suelo a través de la mineralización de la materia orgánica, posee diversas vías de pérdida (volatilización, desnitrificación, lixiviación), siendo las dos primeras vías de baja magnitud y por tanto no contribuyen significativamente a explicar las pérdidas totales de N (Sainz et al. 2001). En

Chile, parte importante de la agricultura intensiva utiliza N por sobre la dosis óptima económica, incrementando costos, restando competitividad a la producción y afectando el ambiente (Parodi 2010).

La lixiviación de  $\text{NO}_3^-$  se produce por la coincidencia temporal de la presencia del anión en el suelo en el momento de ocurrencia de precipitaciones. En un estudio realizado durante siete temporadas productivas, se presentó una pérdida acumulada de 122, 148 y 65  $\text{kg NO}_3^- \text{ ha}^{-1}$  a 1 m, 1.5 m y 2 m de profundidad, respectivamente. En la mayoría de los casos, al aumentar la dosis de fertilizante aplicado se incrementaron las pérdidas de  $\text{NO}_3^-$  (Costa et al. 2002). Conforme a lo establecido en diferentes investigaciones, las pérdidas de N en fertilizantes por lixiviación varían de 4 a 5  $\text{kg ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$  en suelos con drenaje entubado a 90 cm de profundidad (Smith et al. 2000) y de 31 a 77  $\text{kg ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$  en suelos con drenaje a 25 cm de profundidad (Nolan 1999, Smith et al. 1998). Sainz et al. (2001) y Estrada et al. (2007), mencionan que en suelos no drenados las pérdidas de N por lixiviación pueden variar en función de la dosis de fertilizante aplicado.

Las altas pérdidas de N vía lixiviación pueden ocurrir cuando se aplica el fertilizante a cultivos estacionales en suelos permeables. La cobertura vegetal permanente del suelo reduce la lixiviación del N, por el contrario, períodos de barbecho y perturbaciones en el suelo incrementan la lixiviación de  $\text{NO}_3^-$  (BGS et al. 1996). El laboreo del suelo puede incrementar las concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  en las aguas superficiales y subterráneas debido a que el incremento de la oxigenación del suelo promueve la nitrificación (Falkenmark & Chapman 1989).

Por consiguiente, las restricciones ambientales a la agricultura implican que el manejo de la fertilización nitrogenada debe ajustarse a los requerimientos de N del cultivo, siendo éstos determinados por los objetivos de

rendimiento. De este modo, es relevante el proporcionar a los productores agrícolas herramientas de diagnóstico del estatus de N, a fin de decidir la dosis y fechas más adecuadas para las aplicaciones de nitrógeno (Parodi 2010).

#### La producción acuícola y el aporte de nitrógeno

La actividad productiva de la salmonicultura en el sur del país se ha incrementado rápidamente en la última década, tendencia que, pese a los graves problemas sanitarios y ambientales, se mantendrá en el corto plazo. Este explosivo crecimiento sitúa a Chile como el segundo mayor productor de salmónidos del mundo (Celis et al. 2009). La producción de un kilo de salmón necesita 2.5 kg de alimento, el que es aprovechado en un 30%, siendo el remanente liberado al ambiente como restos sólidos y heces que se acumulan bajo las jaulas de crianza. Este residuo o lodo, contamina el medio acuático y representa una amenaza a la eficiencia productiva de la salmonicultura. Una alternativa técnica ha sido la recolección de este material desde el fondo marino o lacustre para ser reciclado en sistemas agrícolas (Teuber et al. 2007).

La aplicación de lodos de piscicultura en suelos patagónicos degradados, cercanos a Coyhaique, Chile, mostró un efecto positivo sobre la actividad biológica edáfica, incrementándose la tasa respiratoria a medida que se incrementó la dosis de lodos aplicada al suelo (Celis et al. 2009). Sin embargo, los resultados de incorporaciones de lodos provenientes de la actividad acuícola deben ser considerados cuidadosamente ya que efectivamente existe: una amplia variabilidad en parámetros químicos en lodos de piscicultura, sobrepasando algunos lo establecido en la Norma Chilena de Compost

(NCH 2880); otros han evidenciado altos valores de pH, Cadmio y Zinc por sobre la NCH 2880, aunque en términos generales las concentraciones de metales pesados son bajas; algunas muestras de lodos han exhibido una alta concentración de sal, elevado contenido de humedad y en la mayoría de los lodos analizados se presenta una alta concentración de N, materia orgánica (MO) y P (ECOING 2009). Una de las conclusiones del estudio realizado por ECOING (2009) señala que para la aplicación de lodos de piscicultura en suelo debe realizarse previamente un balance de masas de P y N.

#### Incorporación de lodos al suelo y el aporte de nitrógeno

En el proceso de tratamiento de aguas servidas domiciliarias se originan residuos que no pueden ser vertidos directamente a cauces de ríos, siendo la eliminación y manejo de éstos una tarea compleja. Estos residuos, conocidos como biosólidos o lodos, presentan acumulaciones de sólidos orgánicos sedimentables y semisólidos o líquidos producidos durante el proceso de tratamiento mecánico, biológico y/o químico de purificación de las aguas (Marambio & Ortega 2003). Además, poseen gran contenido de materia orgánica, microorganismos, macro y micro nutrientes, metales pesados y agua (Metcalf & Eddy 1998, Whitehouse et al 2000).

Por tanto, uno de los principales problemas del tratamiento de aguas residuales es el destino final de los biosólidos; siendo actualmente depositados en rellenos sanitarios, los que se han tornado insuficientes dado los crecientes volúmenes generados (Sánchez et al. 2004). Se origina así una búsqueda urgente de alternativas de destino y de reutilización de biosólidos, siendo su aplicación al suelo una práctica aceptada en la mayoría de los países desarrollados (Orrego 2006).

En Chile, el tratamiento de las aguas residuales domésticas tiene por objetivo el cumplimiento de la normativa que regula la calidad de los vertidos industriales a las aguas superficiales. A nivel nacional, en los últimos años se ha incrementado el número de plantas de tratamiento de aguas servidas, proyectándose al 2010 un 99% de cobertura de tratamiento (SISS 2006). Esto ha generando 220.000 ton por año de biosólidos, de las cuales, un 31% corresponde a la Región de La Araucanía (Aguas Araucanía 2008). En este escenario, surge para el país una nueva problemática ambiental asociada a la generación y disposición de biosólidos o lodos, los que constituyen entre el 1% al 2% del volumen total de aguas servidas tratadas (Sánchez et al. 2004).

Varios trabajos han evaluado el efecto de la aplicación de lodos sobre los parámetros físicos del suelo, tales como la densidad aparente y porosidad, demostrándose que, aunque generan respuestas positivas, éstas no son estables en el tiempo y por el contrario, muchos de sus efectos pueden ser adversos. Respecto a estos últimos, la utilización de biosólidos en la agricultura ha sido cuestionada por el potencial aporte de metales pesados y micronutrientes en exceso, lo que puede provocar un aumento de elementos traza potencialmente tóxicos (ej. Zn, Cd, Cu, Pb, Cr y Ni), llegando a exceder la concentración natural en los suelos en dos o más órdenes de magnitud (McBride et al. 1997). A su vez, este potencial foco de contaminación en agroecosistemas puede ser transferido a la cadena trófica (Nriagu & Pacyna 1988, Castro et al. 2007). Además, los efectos negativos han sido escasamente evaluados al aplicar grandes cantidades de lodos al suelo (Cuevas et al. 2006). Así por ejemplo, la lixiviación de compuestos nitrogenados cuando se aplica lodo digerido es mucho mayor que cuando se aplica lodo crudo, debido al mayor contenido de N

en forma de  $\text{NO}_3^-$  en el primer caso (Aronsson & Perttu 2001).

*Importancia bacteriana en el balance nitrogenado del suelo: la desnitrificación*

Respecto al reciclaje de N en un ecosistema, las comunidades de microorganismos del suelo pueden remover N desde ecosistemas terrestres a través de desnitrificación y por tanto, reducir el potencial de contaminación (Luo et al. 2000, EPA 2005). La desnitrificación es un proceso biogeoquímico, que ocurre naturalmente cuando ciertas bacterias heterótrofas, en ausencia de oxígeno, usan  $\text{NO}_3^-$  como aceptor terminal en sus procesos respiratorios, originándose una secuencia de reacciones enzimáticas conducentes a la producción de gas  $\text{N}_2$ . El proceso involucra la formación de numerosos intermediarios obligatorios tales como,  $\text{NO}_2^-$ , óxido nítrico (NO) y óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ); hasta llegar al producto gaseoso final (Soares 2000, Van den Heuvel 2010).

Este proceso debe ser completo -producto final  $\text{N}_2$ - para no ser indeseable ambientalmente al liberarse productos de desnitrificación incompleta ( $\text{N}_2\text{O}$  y NO) que aumentan los gases efecto invernadero. Para lograr ello, mejoras en el manejo del nitrógeno ocurren cuando la interacción con la biota (plantas y/o microorganismos) es alta. Esta probabilidad de interacción no es constante ya que la biota cambia en respuesta a muchas condiciones ambientales; así, temperatura y humedad están fuera de la posibilidad de manejo, pero otras condiciones son susceptibles de modificarse una vez que sus respuestas son bien conocidas (EPA 2005).

Los suelos agrícolas son frecuentemente fertilizados con N y la reducción de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$  a NO,  $\text{N}_2\text{O}$  y  $\text{N}_2$  vía la ruta de desnitrificación, es sujeto de gran relevancia

económica y medioambiental (Lorite et al. 2000, Mesa et al. 2002, Enwall 2008). En suelos anaeróbicos con elevadas concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  (ej. zonas buffer riparianas), el proceso de desnitrificación es la principal fuente de emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  (Hefting et al 2006).

La habilidad para desnitrificar se encuentra ampliamente distribuida en las bacterias del suelo y ha sido demostrada experimentalmente en representantes del género *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* y *Achromobacter*. Sin embargo, el espectro de tasas bacteriales capaces de desnitrificar en diferentes tipos de suelos no ha sido estudiado en detalle (Manucharova et al. 2000). Se sugiere que las bacterias desnitrificantes pueden crecer predominantemente como heterótrofos aerobios. Las bacterias heterótrofas se distribuyen ampliamente en la naturaleza y son frecuentes en ambientes donde predominan hábitats aeróbicos y exhiben muy bajas tasas de desnitrificación (Murray et al. 1990, Rich et al. 2003).

Rich & Myrold (2004) evaluaron la competencia de agrupaciones microbianas en los procesos de desnitrificación del suelo y de aguas residuales, probando que la bacteria *Bradyrhizobium japonicum* se destacaba como promotora de estos procesos. Se ha detectado que microorganismos que presentan secuencias genómicas que contienen el gen nirS poseen diversos grados de aptitud para utilizar nitratos en sus procesos fisiológicos, géneros *Thauera*, *Acidovorax*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* y *Paracoccus* (Traverso 2002). Del mismo modo, Chèneby et al. (2004) mediante la técnica del rDNA 16S, comprobaron la existencia de numerosas cepas bacterianas capaces de generar desnitrificación en el suelo, pero la gran mayoría eficaces sólo en la generación de dinitrógeno como producto final. Algunos ejemplos son *T. denitrificans*, *M. denitrificans* y *Pseudomonas spp.*

### *Remediación del suelo*

En general, enfrentar una situación de contaminación en el suelo requiere un estudio multidisciplinario, que englobe la identificación de la naturaleza del contaminante, la magnitud del evento de contaminación, la caracterización física, química y biológica del suelo, la caracterización del entorno y el uso proyectado del recurso. Lo anterior, con el fin de aplicar en cada caso la tecnología más adecuada, minimizando costos, aumentando la eficacia del proceso de remediación y controlando la posible difusión de los contaminantes. A continuación, se describen algunas técnicas de remediación de procesos contaminantes en suelos aplicables a contaminación por nitrato.

#### Fitorremediación o fitocorrección

Es una de las tecnologías a las que se dirige el mayor interés en la actualidad; se define como la utilización de plantas para realizar la eliminación o transformación de contaminantes (EPA 2000). Es un término general que hace referencia a varios usos de las plantas y árboles para descontaminar suelos contaminados. Las plantas actúan como filtros biológicos que pueden descomponer o estabilizar metales pesados o bien degradar componentes orgánicos (Weller 2000, Stern et al. 2007). La ventaja de esta técnica se basa en: los bajos costos de implementación, contribución a la estabilización del suelo y reducción tanto de los contaminantes lixiviados hacia las aguas como del transporte superficial de los contaminantes inorgánicos del suelo (Weller 2000). La fitorremediación puede utilizarse como: fitoestabilización o fitorrestauración y fitoextracción. La primera técnica, consiste en promover inactivaciones «in situ» de los contaminantes por medio de

revegetación, inmovilizando los metales o utilizando enmiendas con capacidad fijadora. La segunda técnica, se centra en la extracción de los contaminantes mediante plantas hiperacumuladoras (Collins 2007). Se han registrado experiencias positivas en el uso de especies fitorremediadoras para la reducción de la contaminación con nitratos en suelos de uso agrícola (EPA 2000, Pilipovic et al. 2006).

#### Biorremediación

Las técnicas de biorremediación consisten en el uso de microorganismos (levaduras, hongos o bacterias) para descomponer o degradar sustancias peligrosas en sustancias menos tóxicas (Boyer 2000, Bento et al. 2005). Ciertos microorganismos pueden digerir sustancias orgánicas peligrosas para los seres humanos, tales como: combustibles, desechos orgánicos, residuos agrícolas, solventes o sustancias peligrosas, y descomponerlos a productos inocuos, principalmente gases y agua (Leung 2004). Una vez degradados los contaminantes, la población de microorganismos se reduce al agotarse su fuente de alimentos. Sin embargo, las pequeñas poblaciones de microorganismos sin alimento o los microorganismos muertos no presentan riesgos de contaminación (Nealson 2003). Las medidas de biorremediación pueden usarse como método para descontaminar tanto suelos como aguas, clasificándose en dos grandes categorías: «in situ» y «ex situ». Las estrategias «in situ» tratan el suelo contaminado en el lugar de origen. Por el contrario, las medidas «ex situ» consisten en excavar, transportar y tratar el suelo contaminado fuera de la zona de procedencia (Hatzinger et al. 2002, Xu & Lee 2008, Chen et al. 2009). Para que los microorganismos puedan desempeñar su tarea correctiva es necesario que, fisiológicamente, sean activos. Las medidas biocorrectoras

facilitan el crecimiento de los microorganismos y aumentan la población microbiana, creando condiciones ambientales óptimas para eliminar la mayor cantidad posible de contaminantes (Eweis et al. 1999, Araujo et al. 2004, Navia & Seeger 2006). A continuación se presentan las principales técnicas de biorremediación tanto artificiales como naturales:

a) *Biosparging*. Tecnología de bioremediación que usa microorganismos para biodegradar constituyentes en la zona saturada del suelo. Oxígeno ( $O_2$ ) y los nutrientes (si es necesario) son inyectados dentro de la zona saturada para incrementar la actividad biológica de los microorganismos endógenos. El «biosparging» puede ser usado para reducir las concentraciones de elementos disueltos en aguas subterráneas, adsorbidas al suelo bajo la masa de agua y dentro de los capilares (Johnson et al. 1993, Chien et al. 2008, Kao et al. 2008).

b) *Bioventing*. Las biopilas, también conocidas como «biocells», «bioheaps», «biomounds» o pilas de compostaje, representan una tecnología de remediación «in situ», que utiliza microorganismos autóctonos para degradar compuestos orgánicos adsorbidos al suelo en la zona insaturada del mismo. Esta tecnología involucra «heaping», suelos contaminados dentro de pilas (o celdas), en los que se estimula la actividad microbiológica edáfica a través de la aireación y/o la adición de minerales, nutrientes y humedad. La mejora de la actividad microbiológica resulta en la degradación de, por ejemplo, constituyentes en base a petróleo a través de respiración microbiana (Jamgocian & Yapijakis 1997).

c) *Biorremediación Aeróbica Mejorada*. Esta técnica es utilizada para acelerar naturalmente la biorremediación «in situ» de compuestos orgánicos e inorgánicos y algunos combustibles oxigenados. Estas técnicas incluyen: «biosparging», «bioventing», uso de

componentes liberadores de  $O_2$ , inyección de oxígeno puro, infiltración de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) e inyección de ozono ( $O_3$ ). El  $O_2$  suplementario entregado a la superficie subyacente queda disponible para bacterias aeróbicas eficientes en la degradación (Devlin et al. 2004, Mulligan & Yong 2004, Aulenta et al. 2005, Albergaria et al. 2008).

d) *Landfarming*. Técnica de saneamiento, donde el suelo contaminado se trata con microorganismos mediante la aplicación de capas de suelo de aproximadamente 50 cm de espesor, creando condiciones óptimas para el desarrollo bacteriano, acelerando el proceso de degradación. Este método está especialmente indicado para la purificación de suelos contaminados con aceites, utilizándose fundamentalmente para tratar los fangos residuales de las refinerías de petróleo (EPA 1994). En esta técnica se administra abono al terreno para suministrar  $NO_3^-$  y fosfatos ( $PO_4^{3-}$ ) para activar el crecimiento de los microorganismos, añadiéndose también carbonato cálcico ( $CaCO_3$ ) para subir el pH del suelo hasta 7.8 aproximadamente (Pucci & Pucci 2003).

e) *Bioaumentación*. Técnica de biorremediación natural que consiste en incrementar las poblaciones de bacterias nativas con la adición de bacterias adaptadas selectivamente, las cuales han sido desarrolladas para aumentar los rangos de reducción orgánica o proporcionar la habilidad de degradar compuestos previamente considerados como difíciles o no biodegradables (Torsvik et al. 2002, Ruberto et al. 2003). Esta técnica no sustituye la población de bacterias existentes, si no que aumenta su habilidad de responder a ciertas situaciones o degradar compuestos de la corriente de desechos, dando como resultado una mejora del tratamiento. De este modo, la técnica de bioaumentación se refiere a la inoculación adicional de cultivos específicos

para colaborar con la actual biomasa o restituirla en casos de mortandad (Romantschuck et al. 2000, Torsvik et al. 2002, Navia & Seeger 2006).

f) *Bioestimulación*. Técnica de biorremediación natural que maneja el contenido de humedad y concentración de nutrientes (generalmente N y P) para estimular el crecimiento y actividad de los microorganismos presentes en el suelo, los que, realizarán la biorremediación de la contaminación del suelo (Van Hamme et al. 2003). Esta técnica tiene un costo inferior en comparación con métodos de remediación físicos o químicos, causando menores efectos secundarios (Romantschuck et al. 2000).

g) *Restauración de ecosistemas nativos*. Cambios en el uso del suelo pueden alterar procesos que provoquen el aumento del contenido de nutrientes en aguas superficiales y subterráneas, particularmente N y P. La deforestación puede conducir a altas concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  en el agua debido a la intensificación de la erosión del suelo y aumento de la escorrentía superficial, la descomposición del material vegetal y reducción en la absorción de nutrientes. Al cabo de varios años, la concentración de nitratos en aguas de escorrentía en cuencas deforestadas, puede ser 50 veces mayor que en una zona de captación con presencia de masas forestales (Brooks et al. 1991). En Chile, al pérdida de bosques nativos es relevante, estimándose que en 1540, el territorio nacional poseía 25 millones de hectáreas de bosques, es decir, un 45 % de la superficie total. En 1940, la superficie nacional cubierta con bosque nativo se estimó en 16 millones de hectáreas y actualmente alcanza a 13 millones de hectáreas (CONAF 2010).

Recientemente, productos de desecho ricos en nutrientes -principalmente lodos urbanos, aguas residuales industriales, fangos de cloacas y cenizas de la madera- se han

aplicado con éxito a montes bajos de sauces para reducir, por absorción radicular, el contenido de contaminantes y/o el exceso de nutrientes en aguas y suelos; facilitándose además, la degradación microbiana de los contaminantes orgánicos. Los beneficios económicos de este proceso son el bajo costo del tratamiento de los productos de desecho y que los nutrientes contenidos en estos sirven como fertilizantes (Klang-Westin & Eriksson 2003). El establecimiento de plantaciones de sauces para restaurar ambientes contaminados con nitratos logra disminuir la lixiviación debido al aumento en la evapotranspiración. Investigaciones en ambientes de clima húmedo en Europa septentrional señalan que puede reducirse notoriamente la descarga neta de lixiviados reciclando aguas residuales en un monte cubierto con sauces de ciclo corto. Al mismo tiempo, los componentes peligrosos del lixiviado (por ejemplo, ión amonio  $-\text{NH}_4^+$  y una serie de sustancias orgánicas persistentes y potencialmente tóxicas) son absorbidos por los sauces o retenidos en el sistema suelo-planta (Aronsson & Perttu 2001).

La restauración de ecosistemas nativos es una técnica emergente en el tratamiento de la contaminación, su aplicación es cada vez mayor y sus resultados se valoran como muy positivos. La utilización de técnicas de campo con plantas herbáceas, gramíneas y vegetación arbórea, pone de manifiesto que estos métodos se vislumbran efectivos y competitivos para la recuperación de suelos contaminados. Por otra parte, propiedades del suelo, tales como textura, estructura, pH, complejo de cambio, pueden mejorar las condiciones de subsistencia de las especies nativas para colonizar, por ello el análisis de las condiciones edáficas es un aspecto importante en el desarrollo de esta estrategia (Klang-Westin & Eriksson 2003). De cualquier forma, las nuevas fronteras de la rehabilitación de ecosistemas degradados demuestran la necesidad de abordar esta

técnica desde la multidisciplinaridad (CONAMA 1998). Finalmente, el establecimiento de un sistema de incentivos para el manejo sustentable de los bosques nativos, las plantaciones forestales y la forestación con especies nativas, enfocado principalmente al manejo de renovales y la recuperación de bosques nativos degradados es una tarea pendiente, que debe ser reimpulsada férreamente (CONAF 2010).

h) *Lombricultura*. Uno de los objetivos de la biorremediación consiste en aprovechar la actividad de la fauna del suelo (formada por saprófagos, geófagos, depredadores y rizófagos) que regula la presencia y actividad de los microorganismos en el suelo. Este efecto se debe a que los macroorganismos fraccionan y translocan la materia orgánica que existe en la litósfera (en este caso los contaminantes) y, a través de su defecación, contribuyen a la dispersión de los propágulos microbianos (Vásquez et al. 2002). Los procesos conjuntos entre macro y microorganismos son fundamentales para la mineralización de la MO presente en el suelo (Vásquez et al. 2002). El resultado más relevante logrado con el uso de estas poblaciones, es la transformación de lodos residuales en un material que contiene: micro y macronutrientes, ácidos húmicos y fúlvicos, MO y carga bacteriana, con un alto rendimiento en producción de abono orgánico sólido (Schaefer & Filser 2007). Paralelamente, se han empleado biorreactores con especímenes de *E. foetida* como método de biorremediación de contaminación. En este caso, la lombriz se abre paso a través del suelo excretando humus, que sirve como transporte para que las diversas bacterias entren en contacto de forma más eficaz con el contaminante y se pueda inducir la degradación de éstos (Singer 2001). Para hacer tratamientos de remediación «in situ» de suelos contaminados, se destaca que el

biotratamiento debe contener como mínimo lombriz compostera (*Eisenia sp*), flora microbiana nativa, inocular con la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* y que el residuo pueda trabajarse mezclado con arena y compost de pozo, libre de metales u otros materiales tóxicos del tipo de: Plomo (Pb), Cobre (Cu), Zinc (Zn), Cromo (Cr), Níquel (Ni), Cadmio (Cd), Mercurio (Hg). Además, se sugiere tener precaución con el contenido residual de Fierro (Fe) (Vásquez et al. 2002).

#### *Estándares, normas y reglamentaciones aplicables relativas a nitrato en suelo*

##### Contexto internacional

A nivel internacional, el Protocolo Euro-Retailer Produce Working Group (EUREPGAP) exige que la cantidad de N aplicado no supere los límites nacionales e internacionales. No obstante, no se establecen premisas directas que regulen y mantengan una concepción amigable con el medioambiente o con la salud de la personas. Conforme lo establecido por el CCME (2007), en Canadá los lineamientos de calidad de suelo, para la protección del medioambiente y la salud humana, no establecen parámetros adecuados de concentración en el caso de  $\text{NO}_3^-$ , a diferencia de otros contaminantes edáficos. Lo mismo ocurre para el caso de Estados Unidos, a través de las normas EPA, las cuales no establecen parámetros objetivos para contenidos de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo. Sin embargo - en Alberta, Canadá- los «Environmental standards for livestock industry, 2007», establecen concentraciones máximas permitidas de  $\text{NO}_3^-$  en suelo, diferenciadas según tres criterios: grupo de suelo, textura de suelo y sistema de manejo (con o sin riego), ejemplos:  $140 \text{ kg NO}_3^- \text{ ha}^{-1}$  para suelo café,

de textura media a fina, sin riego ó 270 kg  $\text{NO}_3^-$   $\text{ha}^{-1}$  para todos los grupos de suelo, de textura media a fina, con riego.

#### Contexto Nacional

Respecto de la legislación nacional, no existe normativa en suelo relativa a concentraciones o niveles permitidos de  $\text{NO}_3^-$  y metales pesados. La única norma que establece límites de N es la Norma Chilena del Agua, que fija un límite máximo de 10 partes por millón (ppm) de  $\text{NO}_3^-$  para ser considerada como apta para el consumo humano. El N como fertilizante, se encuentra regulado en los artículos 57, 38 y 39 del Decreto Ley 3557 que establece obligaciones para los fabricantes, distribuidores y consumidores de fertilizantes. La única exigencia legal existente en esta materia es la obligación de indicar en la etiqueta la composición centesimal del producto, en caso que el fertilizante venga envasado, y en caso de expendio a granel, la indicación debe constar con la correspondiente boleta, factura o guía de despacho (MINAGRI 1980).

En cuanto a la aplicación de purines y lodos al suelo provenientes de lechería, sólo existen recomendaciones de carácter general. Sin embargo, desde 1998 se comenzó diseñar e implementar una Política de Acuerdo de Producción Limpia, la cual en su última versión, define una orientación a consolidar la producción limpia en la gestión de los actores públicos y privados, con el fin de elevar los estándares ambientales y de competitividad de las empresas chilenas (CPL 2008).

Además, existen medidas agronómicas, técnicas y nuevos productos fertilizantes que permiten aumentar la eficiencia de uso de fertilizantes nitrogenados, disminuyendo las pérdidas de N con las que se pueden obtener no sólo beneficios productivos sino que también de tipo ambiental; sin embargo, la ley

sólo regula y fiscaliza la composición de los productos fertilizantes que se comercializan y no contempla ninguna regulación en relación a las aplicaciones y manejos de los mismos de manera que no sean un riesgo para la salud y el ambiente (Tassara & Ortega 2003).

#### CONCLUSIONES

La contaminación de suelos y aguas por  $\text{NO}_3^-$  proveniente de actividades productivas como la agricultura, ganadería y acuicultura, y de prácticas de reutilización de subproductos originados de éstas (purines, lodos) y de sistemas de tratamiento de aguas servidas (lodos o biosólidos), constituye una problemática ambiental de interés creciente a nivel mundial y de implicancias económicas, ambientales y sociales relevantes a nivel nacional.

Por consiguiente, el uso de métodos de remediación de  $\text{NO}_3^-$  y otros contaminantes presentes en el suelo permite remediar agroecosistemas contaminados o en riesgo de contaminación. Lo anterior, facilita el alcance de un mejor comportamiento ambiental en los diferentes ámbitos productivos asociados al uso de los recursos naturales, siendo ésto de gran importancia al pretender acceder a mercados externos exigentes ambientalmente.

En Chile, no existe normativa en suelo relativa a concentraciones o niveles permitidos de nitrato y metales pesados; sin embargo, están vigentes regulaciones que indican una tendencia creciente hacia la protección del recurso suelo. Dado esto, las técnicas de remediación de suelo, en conjunto con medidas de prevención y control agronómico, sanitario y ambiental, se recomienda sean parte del diseño de una estrategia de gestión productiva y ambiental en el sector agropecuario.

LITERATURA CITADA

- AGUAS ARAUCANIA (2008) Informe de generación de lodos, Novena Región de La Araucanía. 2pp.
- ALBERGARIA J, M CONCEIÇÃO, M ALVIM-FERRAZ & C DELERUE-MATOS (2008) Soil vapor extraction in sandy soils: Influence of airflow rate. *Chemosphere* 73(9): 1557-1561.
- ALFARO M & F SALAZAR (2005) Ganadería y contaminación difusa: Implicancias para el sur de Chile. *Agricultura Técnica* 65(3):330-340.
- ARAUJO I, N ANGULO & C CARDENAS (2004) Biorremediación de suelos con consorcio bacteriano, compostaje y fertilización. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas* 38(3):186-202.
- ARIAS S, J PÉREZ & O RUEDA (2004) Lixiviación de nitratos en dos suelos al alterar sus propiedades físicas. *Revista EIA* 2: 35 - 40.
- ARONSSON P & K PERTTU (2001) Willow vegetation filters for wastewater treatment and soil remediation combined with biomass production. *Forestry Chronicle* 77(2): 293-299.
- AULENTA F, A BIANCHI, M MAJONE, M PAPINI, M POTALIVO & V. TANDOI (2005) Assessment of natural or enhanced in situ bioremediation at a chlorinated solvent-contaminated aquifer in Italy: a microcosm study. *Environment International* 31: 185- 190.
- BAKER L (1992) Introduction to nonpoint source pollution in the United States and prospects for wetland use. *Ecological Engineering* 1:1-26.
- BENTO F, F CAMARGO, B OKEKE & W FRANKENBERGER (2005) Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology* 96:1049-1055.
- BGS/ODA/UEP/WHO (1996) Characterisation and assessment of groundwater quality concerns in Asia Pacific Region. Doc. UNEP/DEIA/AR.96-1. Nairobi. 56 pp.
- BIEDERBECK V, C CAMPBELL, H UKRAINETZ, D CURTIN & O BOUMAN (1996) Soil microbial and biochemical properties after ten years of fertilization with urea and anhydrous ammonia. *Canadian Journal of Soil Science* 76: 7-14.
- BLANCO M (2008) Situación actual de las granjas ecológicas de ganado vacuno de Galicia. Comparación con los sistemas de explotación tradicional e intensivo. Tesis de Doctorado, Universidad de Santiago de Compostela. 89 pp.
- BÖHLKE J (2003) Sources, transport, and reaction of nitrate in ground water, in Lindsey, B. D., and others, eds., Residence times and nitrate transport in ground water discharging to streams in the Chesapeake Bay Watershed: U.S. Geological Survey Water Resources Investigations Report 03- 4035, p. 25-39.
- BÖHLKE J, J HARVEY & M VOYTEK (2004) Reach-scale isotope tracer experiment to quantify denitrification and related processes in a nitrate-rich stream in an agricultural watershed, mid-continent USA. *Limnology and Oceanography* 49: 821-838.
- BOYER R (2000) Conceptos de Bioquímica. International Thomson Editores. México. 456 pp.
- BOUWMANA, L BOUMANS & N BATJES (2002) Modelling global annual N<sub>2</sub>O and NO emissions from fertilized fields. *Global Biogeochemical Cycles* 16: 1-9.
- BROOKS K, P FOLLIOTT, H GREGERSEN & J THAMES (1991) Hydrology and the management of watersheds. Ames, Iowa: Iowa State University Press. 130 pp.
- CANCINO J, C BONILLA & G DONOSO (1997) Contaminación de los recursos hídricos en la zona central de Chile. VI Jornadas CONAPHI-CHILE p. 1-15.
- CARPENTER S, N CARACO, D CORRELL, R HOWARTH, A SHARPLEY & V SMITH (1998) Nonpoint pollution of surface waters with phosphorous and nitrogen. *Ecol. Soc. Am. Issues in Ecology* No 3.
- CASTRO P, HENRÍQUEZ O & R FRERES (2007) Posibilidades de aplicación de lodos o biosólidos a los suelos del sector norte de la Región Metropolitana de Santiago. *Rev. Geográfica del Norte Grande*. 37: 35-45.
- CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (2007) Canadian soil quality guidelines for the protection of environmental and human health: Summary tables. En: Canadian environmental quality guidelines,

- 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
- CELIS J, M SANDOVAL & E ZAGAL (2009) Actividad respiratoria de microorganismos en un suelo patagónico enmendado con lodos salmonícolas. *Arch Med Vet* 41: 275-279.
- CHEN W, L HOU, X LUO & L ZHU (2009) Effects of chemical oxidation on sorption and desorption of PAHs in typical Chinese soils. *Environmental Pollution* 157: 1894-1903.
- CHÈNEBY D, S PERREZ, C DEVROE, S HALLET, Y COUTON, F BIZOUARD, G IURETIG, J GERMON & L PHILIPPOT (2004) Denitrifying bacteria in bulk and maize-rhizospheric soil: diversity and N<sub>2</sub>O-reducing abilities. *Canadian Journal of Microbiology* 50(7): 469-474.
- CHIEN H, C KAO, S CHEN & Y CHEN (2008) Bioremediation of a petroleum-hydrocarbon contaminated aquifer by in situ biosparging system. *Chemosphere* 70: 1492-1499.
- COLLINS C (2007) Implementing Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbons. In: Neil Willey (ed) *Phytoremediation: methods and reviews*: 99-108. Human Press Inc, New Jersey, United States of America.
- COMISIÓN NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE (CONAMA) (1998) Política ambiental de la Región de los Lagos. Comisión Nacional del Medio Ambiente. (en línea) URL: <http://www.sinia.cl/1292/fo-article-26198.pdf> (accedido Noviembre 8, 2010).
- CORPORACIÓN NACIONAL FORESTAL (CONAF) (2010) Ley del Bosque Nativo. (en línea) URL: <http://www.conaf.cl/conaf/seccion-ley-de-bosques-nativos.html> (accedido Octubre 15, 2010).
- COSTA J, H MASSONE, E SUERO, M VIDAL & Y BEDMAR (2002) Nitrate contamination of a rural aquifer and accumulation in the unsaturated zone. *Agricultural Water Management* 57(1): 33-47.
- CONSEJO NACIONAL DE PRODUCCIÓN LIMPIA (CPL) (2008) Acuerdo de Producción Limpia: Productores de leche bovina de la Región de Los Ríos. 27 pp.
- CUEVAS J, O SEGUEL, A ELLIES & J DORNER (2006) Efectos de las enmiendas orgánicas sobre las propiedades físicas del suelo con especial referencia a la adición de lodos urbanos. *Revista Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* 6 (2): 1-12.
- DEVLIN J, D KATIC & J BARKER (2004) In situ sequenced bioremediation of mixed contaminants in groundwater. *Journal of Contaminant Hydrology* 69: 233-261.
- ECOING LTDA (2009) Guía de aplicación de lodos de piscicultura en suelos. Servicio Agrícola y Ganadero. 21 pp.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA) (1994) Chapter 5: Landfarming. In: EPA (ed) *How to evaluate alternative cleanup technologies for underground storage tank sites: A guide for corrective action plan reviewers*: 56-80. United States.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (2005) Ecosystem stress from chronic exposure to low-levels of nitrate. National Risk Management Research Laboratory, Office of research and development, Cincinnati, Ohio. 35 pp.
- ENWALL K (2008) Community ecology of denitrifying bacteria in arable land. Doctoral Thesis, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suecia. 65 pp.
- EPA/600/R-99/107 (2000) Introduction to Phytoremediation. U.S. Environmental Protection Agency, National Risk Management Research Laboratory Office of Research and Development Cincinnati, Ohio 45268. 72 pp.
- ESTRADA M, I NIKOLSKI, J MENDOZA, C ACEVEDO, E DE LA CRUZ, N BRITO, A GÓMEZ & O BAKHLAEVA (2007) Lixiviación de nitrógeno inorgánico en un suelo agrícola bajo diferentes tipos de drenaje en el trópico húmedo. *Universidad y Ciencia* 23(1): 1-13.
- EWEIS J, E SCHROEDER, D CHANG, K SCOW, R MORTON & R CABALLERO (1999) Principios de biorecuperación: Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y fisicoquímicos. McGraw Hill, España. 147 pp.
- FALKENMARK M & T CHAPMAN (eds) (1989) *Comparative hydrology. An ecological approach to land and water resources*, Paris: UNESCO.

- GARDNER B. 1999. European farming and the environment. In: European Agriculture: Policies, Production, and Trade: 153 – 176. Editorial Routledge, Inglaterra.
- GOECKE P (2006) Metodología para la generación de mapas de potencial de lixiviación de nitratos a nivel predial. Tesis Ingeniero Agrónomo, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 26 pp.
- GONZALEZ Y & S SANDOVAL (2005) Diseño de sistemas de tratamiento y aprovechamiento de purines de origen bovino. Tesis Ingeniería, Facultad de Ciencias, Universidad católica de Temuco, Chile. 177 pp.
- HATZINGER P, M WHITTIER, M ARKINS, C BRYAN & W GUARINI (2002) In-Situ and Ex-Situ Bioremediation Options for Treating Perchlorate in Groundwater. Remediation Journal 12(2):69 – 86.
- HEFTING M, R BOBBINK & M JANSSENS (2006) Spatial variation in denitrification and N<sub>2</sub>O emission in relation to nitrate removal efficiency in a N-stressed riparian buffer zone. Ecosystems 9: 550-563.
- HORNSBY A (2000) Agua Subterránea: El Recurso Oculto. Departamento de Ciencias de la Tierra y el Agua, Servicio Cooperativo de Extensión, Instituto de Ciencias Alimenticias y Agrícolas, Universidad de Florida. 102pp
- INE (2007) Resultados preliminares VII Censo Agropecuario. Impresos Universitarios S.A., Santiago, Chile. 443 pp.
- IRAIRAS, R BRAVO, G HOLMBERG & C CRISTI (2004) Objetivos y acciones del plan ganadero regional para la agricultura familiar campesina. En Bravo R & N Teuber (eds) Serie Actas N° 12 Plan ganadero para la agricultura familiar campesina de la X Región de Los Lagos: 15-24. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Remehue, Osorno, Chile.
- JAMGOCIAN R & C YAPIJAKIS (1997) Pilot-scale comparison of bioventing vs. hydrogen peroxide in maintaining effective aerobic in situ bioremediation. Studies in Environmental Science 66: 365-377.
- JARVIS S (2002) Environmental impacts of cattle housing and grazing. In Kaske, M., H. Scholz and M. Höltershinken (eds.) Recent developments and perspectives in bovine medicine: 10-23. Keynotes lectures of the 22nd World Buiatrics Congress, Hannover, Germany.
- JOHNSON R, P JOHNSON, D MCWHORTER, R HINCHEE & I GOODMAN (1993) An overview of in situ air sparging. Ground Water Monitoring Review 13(4):127-135.
- JORDAN F, W JODY, E GLENN, L SAM, T THOMPSON & T LEWIS (2008) Natural bioremediation of a nitrate-contaminated soil-and-aquifer system in a desert environment. Journal of Arid Environments 72: 748-763.
- KAHL J, S NORTON, I FERNANDEZ, K NADELHOFFER, C DRISCOLL & J ABER (1993) Experimental inducement of nitrogen saturation at the watershed scale. Environmental Science and Technology 27: 565-568.
- KAO C, C CHEN, S CHEN, H CHIEN & L CHEN (2008) Application of in situ biosparging to remediate a petroleum-hydrocarbon spill site: Field and microbial evaluation. Chemosphere 70: 1492-1499.
- KLANG-WESTIN E & J ERIKSSON (2003) Potential of *Salix* as phytoextractor for Cd on moderately contaminated soils. Plant and Soil 249(1): 127-137.
- LEUNG M (2004) Bioremediation: Techniques for cleaning up a mess. BioTeach Journal 2: 18 – 22.
- LORITE M, J SANJUÁN, L VELASCO, J OLIVARES & E BEDMAR (2000) Carbon monoxide dehydrogenase activity in *Bradyrhizobium japonicum*. Applied and Environmental Microbiology 66:1871-1876.
- LUO J, R TILLMAN & P BALL (2000) Nitrogen loss through denitrification in a soil under pasture in New Zealand. Soil Biology and Biochemistry 32:497-509.
- MACHEFERT S & N DISE (2004) Hydrological controls on denitrification in riparian ecosystems. Hydrology & Earth System Sciences 8(4): 686-694.
- MAHLIS & M NYBORG (1986) Increase in mineral N in soils during winter and loss of mineral N during early spring in north-central Alberta. Canadian Journal of Soil Science 66: 397-409.

- MANUCHAROVAN, T DOBROVORSKAYA & A STEPANOV (2000) Taxonomic Composition of Denitrifying Bacteria in Soddy Podzolic. Soil Microbiology 69(2): 234-237.
- MARAMBIO C & R ORTEGA (2003) Uso potencial de lodos derivados del tratamiento de aguas servidas en la producción de cultivos en Chile. Revista Agronomía y Forestal UC 20: 20-23.
- MARY B, BEAUDOIN N, JUSTES & J MACHET (1999) Calculation of nitrogen mineralization and leaching in fallow soils using a simple dynamic model. European Journal of Soil Science 50: 549-566.
- MCBRIDE M, RICHARDS B, STEENHUIS T, RUSSO J & S SAUVE´ (1997) Mobility and solubility of toxic metals and nutrients in soil 15 years after sludge application. Soil Science 162: 487-500.
- McMAHON P, K DENNEHY, B BRUCE, J BÖHLKE, R MICHEL, J GURDAK & D HURLBUT (2006) Storage and transit time of chemicals in thick unsaturated zones under rangeland and irrigated cropland, High Plains, United States. Water Resources Research 42: 1-18.
- MERINO C (2004) Remediation of nitrate polluted groundwaters through the implementation of permeable reactive barriers. Tesis Master of Sciences, Institute of BioScience and Technology, Cranfield University. 96 pp.
- MESA S, L VELASCO, M MANZANERA, M DELGADO & E BEDMAR (2002) Characterization of the nor CBQD genes, encoding nitric oxide reductase, in the nitrogen fixing bacterium Bradyrhizobium japonicum. Microbiology 148: 3553-3560.
- METCALFL & HEDDY (1998) Ingeniería de aguas residuales: Tratamiento, vertido y reutilización. Tercera edición. Mc Graw-Hill, México. 109 pp.
- MILLARIUM (2004) La contaminación del agua por nitratos. Monografías Millanarium (en línea) URL: <http://www.miliarium.com/Marcos/Bibliografia.htm> (accedido Octubre 5, 2010)
- MINAGRI (1980) Decreto Ley N° 3.557.
- MULLIGAN C & R YONG (2004) Natural attenuation of contaminated soils. Environment International 30(4): 587-601.
- MURRAY R, L PARSONS & M SMITH (1990) Aerobic and anaerobic growth of rifampin-resistant denitrifying bacteria in soil. Applied and Environmental Microbiology 56(2): 323-328.
- NAVIAR & M SEEGER (2006) Biorremediación de suelos contaminados con compuestos orgánicos persistentes (COPs). Vol. 1. Editorial Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. 225 pp.
- NEALSON K (2003) Harnessing microbial appetites for remediation. Nature Biotechnology 21:243-245.
- NRIAGU J & J PACYNA (1988) Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. Nature. 333: 134-139.
- NOLAN B (1999) Nitrate behavior in ground waters of the southeastern USA, Reston. J. Environ. Qual. 28: 1518-1527.
- ORENO, Y YECHIELI, J BÖHLKE & ADODY (2004) Contamination of groundwater under cultivated fields in an arid environment, central Arava Valley, Israel. Journal of Hydrology 290:312-328.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (1980) Nitratos, nitritos y compuestos de N-nitroso. En: Criterios de salud ambiental: 15-22. Publicación Científica N° 394.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (2007) Nitrate and nitrite in drinking water. Ediciones OMS, Avenida Appia 20, 1211, Génova 27, Suiza. 21 pp.
- ORREGO S (2006). Efecto de lodos residuales provenientes de plantas de tratamiento de aguas servidas incubados con hongos saprobios sobre el crecimiento de *Eucalyptus globulus* Labill. Tesis Ingeniero Forestal, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera. Temuco, Chile. 102 pp.
- ORTUZAR M, AAIZPURUA, A CASTELLÓN, A ALONSO & J ESTAVILLO (2003) Evolución del contenido de nitrato y amonio en lixiviados bajo diferentes formas de fertilización nitrogenada en trigo. Estudios de la Zona No Saturada del Suelo 6:234 – 244.
- PACHECO J & A CABRERA (2003) Fuentes principales de nitrógeno de nitratos en aguas subterráneas. Ingeniería 7(2): 47-54.

- PARODI P (2010) Los desafíos de la agronomía. Primera edición. Ediciones Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile. 278 pp.
- PILIPOVICA, ORLOVIC, NIKOLIC & ZGALIC (2006) Investigating potential of some poplar (*Populus sp.*) clones for phytoremediation of nitrates through biomass production. Environmental Applications of Poplar and Willow Working Party 18-20 Mayo 2006, Northern Ireland. 6 pp.
- PUCCIG & OPUCCI (2003) Biodegradabilidad de componentes de mezclas naturales de hidrocarburos previamente sometidas a landfarming. Revista Argentina de Microbiología 35:62-68.
- RAMANKUTTY N, A EVAN, C MONFREDA & J FOLEY (2008) Farming the planet: 1. Geographic distribution of agricultural lands in the year 2000. Global Biogeochemical Cycles 22(1): 1-19.
- RANJAN S, S KAZAMA & M SAWAMOTO (2006) Effects of climate and land use changes on groundwater resources in coastal aquifers. Journal of Environmental Management 80:25-35.
- RICH J, R HEICHEN, P BOTTOMLEY, K CROMACK & D MYROLD (2003) Community Composition and Functioning of Denitrifying Bacteria from Adjacent Meadow and Forest Soils. Applied and Environmental Microbiology 69(10): 5974-5982.
- RICH J & D MYROLD (2004) Community composition and activities of denitrifying bacteria from adjacent agricultural soil, riparian soil and creek sediment in Oregon, USA. Soil Biology and Biochemistry 36(9):1431-1441
- RIMSKY-KORSAKOV, GRUBIO & R LAVADO (2004) Potential Nitrate Losses under Different Agricultural Practices in the Pampas Region, Argentina. Agricultural Water Management 65:83-94.
- ROMANTSCHUK M, ISARAND, T PETANEN, R PELTOLA, M JONSSON-VIHANNE, T KOIVULA, K YRJALA & K HAAHTELA (2000) Means to improve the effect of in situ bioremediation of contaminated soil: an overview of novel approaches. Environmental Pollution 107(2): 179–185.
- RUBERTO L, S VAZQUEZ & W McCORMACK (2003) Effectiveness of the natural bacterial flora, biostimulation and biodegradation on the bioremediation of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil. International Biodeterioration and Biodegradation 52: 115-125.
- SAINZ H, H ECHEVERRÍA & L PICONE (2001) Denitrification in maize under no-tillage: effect of 296 nitrogen rate and application time. Soil Science Society American Journal 65: 1314–1323.
- SANCHEZ M, C MONDINI, M DE NOBILI, L LEITA & A ROIG (2004) Land application of biosolids: Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter. Waste Management 24. 325-332.
- SALAZAR F (2005) Utilización y pérdidas de nitrógeno, en aplicaciones de purines y estiércol de lechería. Revista Tierra Adentro 60: 23–25.
- SCHAEFER M & J FILSER (2007) The influence of earthworms and organic additives on the biodegradation of oil contaminated soil. Applied Soil Ecology 36: 53-62.
- SINGER A (2001) Contribution of earthworms to PCB bioremediation. Soil Biology & Biochemistry 33: 765-776.
- SMITH C, F DUNIN, S ZEGELIN & R POSS (1998) Nitrate leaching from a Riverine clay soil under cereal rotation. Australian Journal of Agricultural Research 49: 379–389.
- SMITH C, F DUNIN, R POSS & J ANGUS (2000) Nitrogen budget of wheat growing on a Riverine clay soil. Australian Journal of Agricultural Research 51: 867–876.
- SOARES M (2000) Biological denitrification of groundwater. In: Environmental Challenges: 183-193. Belkin S & S Gabbay (eds.) Kluwer Academic Publishers, Springer, Estados Unidos. 630 pp.
- STERN J, S SHAH & B GLICK (2007) Increasing Plant Tolerance to Metals in the Environment. In: Neil Willey (ed) Phytoremediation: methods and reviews: 15-26. Human Press Inc, New Jersey, United States.
- SUPERINTENDENCIA DE SERVICIOS SANITARIOS (2006) Informe de gestión del sector sanitario (en línea) URL: <http://>

- www.siss.cl/articles-3687\_informegestion.pdf (accedido Septiembre 12, 2010).
- TANG C, J CHEN, S SHINDO, Y SAKURA, W ZHANG & Y SHEN (2004) Assessment of groundwater contamination by nitrates associated with wastewater irrigation: A case study in Shijiazhuang region, China. *Hydrological Processes* 18: 2303–2312.
- TASSARA C & R ORTEGA (2003) Eurepgap y la regulación chilena en el uso de fertilizantes y plaguicidas. *Revista Agronomía y Forestal UC* 21: 9- 11.
- TEUBER N, F SALAZAR, M ALFARO & A VALDEBENITO (2007) Efecto de diferente dosis de lodo de la crianza de salmones en el cultivo de papa y su efecto residual en ballica anual. *Agricultura Técnica* 67(4):393-400.
- TORSVIK V, L OVREAS & T THINGSTAD 2002. Prokaryotic diversity magnitude dynamics and controlling factors. *Science* 296: 1064 -1066.
- TRAVERSO D (2002) Estudio de la diversidad de bacterias desnitrificantes en sistemas de tratamiento de efluentes industriales utilizando el gen de la nitrito reductasa. Center for Microbial Ecology, Michigan State University. Michigan, EE.UU. 516 pp.
- VAN DEN HEUVEL R (2010) Nitrous oxide emission hotspots and acidic soil denitrification in riparian buffer zone. Ph.D. thesis, Faculty of Science, Utrecht University. 128 pp.
- VAN HAMME J, A SINGH & O WARD (2003) Recent Advances in Petroleum Microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67:503-549.
- VÁSQUEZ A, A MESTA & N RUIZ (2002) Biotratamientos con base en el uso de la lombriz *Eisenia sp.* aislada de pozos composteros, para la remediación de suelos contaminados con residuos industriales de parafina. XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancún, México. 27 al 31 de octubre, 2002.
- WELLER K (2000) Phytoremediation: Using plants to clean up soils. *Agricultural Research Magazine* 48(6): 4 - 9.
- WHITEHOUSE L, H WANG & M TOMER (2000) Guidelines for utilisation of sewage effluent on land. Part two: issues for design and management. Rotorua, New Zealand. 180 pp.
- WILCOX B & T THUROW (2006) Emerging issues in rangeland ecohydrology: vegetation change and water cycle. *Rangeland Ecology and Management* 59: 220-224.
- XUL & H LEE (2008) Novel approach to microwave-assisted extraction and micro-solid-phase extraction from soil using graphite úbers as sorbent. *Journal of Chromatography* 1192: 203–207.
- YADAV S (1997) Formulation and estimation of N-NO<sub>3</sub> leaching from corn cultivation. *Journal of Environmental Quality* 26: 808-814.

Recibido 19/11/2010; aceptado 09/06/2011