



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EVALUACIÓN DE UN BIOREACTOR PARA LA RETENCIÓN DE
FORMAS NITROGENADAS EN UN CANAL DE DESAGÜE EN UNA
MICROCUCENCA CON CULTIVO DE MAÍZ GRANO (*Zea mays* L.)**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magíster en Manejo de Suelos y Aguas

NICOLÁS ESTEBAN VILLACURA DÍAZ

Director de Tesis
OSVALDO SALAZAR GUERRERO
YASNA TAPIA FERNÁNDEZ

Profesores consejeros
RICARDO CABEZA PÉREZ
CRISTIAN MATTAR BADER

SANTIAGO - CHILE
2015

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

EVALUACIÓN DE UN BIOREACTOR PARA LA RETENCIÓN DE FORMAS
NITROGENADAS EN UN CANAL DE DESAGÜE EN UNA MICROCUENCA CON
CULTIVO DE MAÍZ GRANO (*Zea mays* L.)

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de
Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Manejo de Suelos y Aguas

NICOLÁS ESTEBAN VILLACURA DÍAZ

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
DIRECTOR DE TESIS		
Sr. Osvaldo Salazar Guerrero Ing. Agrónomo, MS, Ph.D.	70	Aprobada
Sra. Yasna Tapia Fernández Ing. en Alimentos, Dra.	65	Aprobada
PROFESORES CONSEJEROS		
Ricardo Cabeza Pérez Ing. Agrónomo, Ph.D.	70	Aprobada
Cristian Mattar Bader Ing. Rec. Nat. Renovables, MS, Dr.	70	Aprobada

Santiago, Chile
2015

EVALUACIÓN DE UN BIOREACTOR PARA LA RETENCIÓN DE FORMAS
NITROGENADAS EN UN CANAL DE DESAGÜE EN UNA MICROCUENCA
CON CULTIVO DE MAÍZ GRANO (*Zea mays* L.)

BIOREACTOR EVALUATION FOR RETAINING NITROGEN FORMS IN AN
OPEN CHANNEL IN A MICRO BASIN CULTIVATED WITH MAIZE
(*Zea mays* L.)

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a cada una de las personas que creyeron en mí y apoyaron en todos estos largos años de estudios, dándome valores y distintas enseñanzas que espero aplicar en todos los aspectos de la vida.

A mis padres Marzuri y Juan quienes han estado siempre dando lo mejor de sí para incentivar cada uno de mis deseos, ayudando a cumplir mis metas. A mis hermanos, Xavier, Benjamín y Bastián para que sigan lo que ellos realmente quieren hacer. A William, por su apoyo incondicional. A Mabel y Lelita, por hacerme parte de su nido y ayudar a que estos años se hicieran más ligeros. A cada uno de los integrantes de mi familia. Y, en especial, a aquella mujer que me enseñó y ha dado su vida desde que tengo uso de razón, María Eugenia.

Agradezco haber conocido a grandes amigos(as) y compañeros(as) en el transcurso de la universidad, los cuales me han enseñado a ver la vida de otra forma y con los que más que estudiar durante largos años, he disfrutado en demasía. Especialmente a Wiro el cual ha sido un apoyo total desde los primeros días de Universidad y un compañero excepcional. Feña el Papi, con el que disfrute cada momento de terreno por la tesis (incluso cuando perdí el trabajo de seis meses por una lluvia) y el que me ayudó a terminar de forma satisfactoria ésta. Catacha, la rancagüina con la que discutí en demasiadas ocasiones, pero que estuvo apoyando en todo momento. Wally, por toda la ayuda en la Universidad y especialmente en la tesis. José Luis y Andresito por ser los más secos y entender a un ser muy distinto a ellos. Paulis (china), por alegrar la vida en todo momento con su gran sonrisa. Además de mi compañera Scarlett, la que me ha apoyado en todo momento y me ha ayudado a seguir adelante en todo este proceso.

Debo además agradecer a mis profesores guías Osvaldo Salazar y Yasna Tapia, los que brindaron todo el tiempo y apoyo con respecto a la tesis, mostrando gran disposición para ofrecer sus conocimientos durante la investigación, junto con una gran confianza fuera de esta. Igualmente a dos grandes profesores de la Universidad, ya que más que catedráticos son personas que tratan a los estudiantes como un igual. Kanko Nájera, con el que comencé este trabajo y siempre estuvo aconsejando a lo largo de estos años y recomendando muchas canciones; y Oscar Seguel, el que aparte de enseñar teóricamente, divulga valores y da apoyo fuera y dentro de la Universidad.

También agradezco a todas las personas con las que trabajé en el Laboratorio de Química de Suelos y Aguas. A las malditas Carlita, Clau y Romi, Naty, Cami G, Piero, Don Gabriel, Sra. Consuelo, Sra. Marisol y todos los que fueron partícipes en este largo sufrimiento.

This is the end
Beautiful friend
This is the end
My only friend
the end....

The Doors, 1967

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1. Nitrógeno y su relevancia con la contaminación difusa.....	1
2. Nitrato y el proceso de desnitrificación.....	2
3. Susceptibilidad a la contaminación en la Región del Libertador Bernardo O’Higgins...	4
4. Medidas de mitigación y tipos de bioreactores desnitrificantes.....	5
LITERATURA CITADA.....	9
CAPÍTULO II. DISEÑO DE UN BIOREACTOR CON RECARGA CONTINUA USANDO RESTOS VEGETALES EN UN CANAL DE DESAGÜE	19
RESUMEN.....	19
ABSTRACT.....	20
INTRODUCCIÓN.....	21
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
Ubicación del estudio.....	23
Características de diseño de bioreactor I.....	23
Variables a evaluar en los bioreactores.....	24
Velocidad de flujo.....	24
Caudal.....	24
Volumen de flujo activo.....	24
Porosidad.....	25
Tiempo de retención hidráulico.....	25
Variables a evaluar en canal de desagüe.....	25
Diseño experimental y análisis estadístico.....	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
Variables a evaluar en bioreactor I.....	27
Bioreactor II.....	28
Variables a evaluar en bioreactor II.....	29
CONCLUSIÓN.....	30
LITERATURA CITADA.....	31
APÉNDICE.....	33
CAPÍTULO III: EVALUACIÓN DE UN BIOREACTOR PARA LA RETENCIÓN DE FORMAS NITROGENADAS EN UN CANAL DE DESAGÜE EN UNA MICROCUENCA CON CULTIVO DE MAÍZ GRANO (<i>Zea mays</i> L.)	34
RESUMEN.....	34
ABSTRACT.....	35
INTRODUCCIÓN.....	36
MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
Ubicación del estudio.....	40
Descripción del ensayo en campo.....	40
Muestreo de agua.....	41

Variables a evaluar en terreno.....	42
Variables a evaluar en laboratorio.....	42
Análisis de cargas y eficiencia de remoción de nitrógeno-nitrato.....	42
Diseño experimental y análisis estadístico.....	43
RESULTADOS.....	44
Condiciones climáticas del sitio en estudio.....	44
Parámetros de calidad de agua en las distintas fechas de medición.....	44
Medición de relación C/ N en tratamientos con material orgánico.....	45
Concentración y carga de nitrógeno-nitrato	46
Concentración nitrógeno-nitrato en aguas del canal de desagüe.....	46
Concentración nitrógeno-nitrato de bioreactores, en fechas de medición.....	46
Concentración nitrógeno-nitrato de bioreactores, en distintos tratamientos.....	47
Carga nitrógeno-nitrato de bioreactores, en fechas de medición.....	48
Carga nitrógeno-nitrato de bioreactores, en distintos tratamientos.....	48
Eficiencia de remoción nitrógeno-nitrato de bioreactores, en fechas de medición.....	49
Eficiencia de remoción nitrógeno-nitrato de bioreactores, en distintos tratamientos.....	49
DISCUSIÓN.....	50
Parámetros de calidad de agua.....	50
pH.....	50
Temperatura.....	50
Oxígeno disuelto.....	50
Concentración de nitrógeno-nitrato en el canal de desagüe.....	51
Relación C/ N en tratamientos con material orgánico.....	52
Concentración de nitrógeno-nitrato en bioreactores.....	52
Eficiencia de remoción nitrógeno-nitrato en bioreactores.....	53
Cargas de nitrógeno-nitrato en el canal de desagüe y en bioreactores.....	54
CONCLUSIÓN.....	55
LITERATURA CITADA.....	56
APÉNDICE.....	62

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Cuadro 1. Estudios de distintos tipos de bioreactores, en donde se evaluó la remoción de nitrógeno-nitrato (N-NO ₃), además de los distintos materiales orgánicos utilizados.....	7
---	---

CAPÍTULO II. DISEÑO DE UN BIOREACTOR CON RECARGA CONTINUA USANDO RESTOS VEGETALES EN UN CANAL DE DESAGÜE.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos ensayo de campo.....	27
Cuadro 2. Resultados de variables evaluadas en bioreactor I.....	28
Cuadro 3. Resultados de variables evaluadas en bioreactor II.....	30

CAPÍTULO III: EVALUACIÓN DE UN BIOREACTOR PARA LA RETENCIÓN DE FORMAS NITROGENADAS EN UN CANAL DE DESAGÜE EN UNA MICROCUCENCA CON CULTIVO DE MAÍZ GRANO (*ZEAMAYS L.*).

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos ensayo de campo.....	43
Cuadro 2. Parámetros de calidad de agua obtenidos en el canal de desagüe.....	46
Cuadro 3. Resultados iniciales y finales de relación carbono nitrógeno (C/ N) en los tratamientos evaluados.....	46
Cuadro 4. Concentración de nitrógeno-nitrato (N-NO ₃) de entrada y salida en las distintas fechas de medición.....	48
Cuadro 5. Concentraciones de nitrógeno-nitrato (N-NO ₃) de entrada y salida en los distintos tratamientos.	48
Cuadro 6. Cargas de nitrógeno-nitrato (N-NO ₃) en bioreactores de entrada y salida, en las distintas fechas de medición.....	49
Cuadro 7. Cargas de nitrógeno-nitrato (N-NO ₃) de bioreactores en la entrada y salida, en distintos tratamientos.....	49
Cuadro 8. Eficiencia de remoción de nitrógeno-nitrato (N-NO ₃) (%) de los bioreactores, en los distintos tratamientos.....	50
Cuadro 9. Simulación de cargas para nuevo bioreactor y máxima carga en el canal de desagüe.	55

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO II. DISEÑO DE UN BIOREACTOR CON RECARGA CONTINUA USANDO RESTOS VEGETALES EN UN CANAL DE DESAGÜE.

- Figura 1. a) Bioreactor I usado en el canal de desagüe. Vista en perfil del bioreactor I con los diámetros y largos de tubos, junto con la dirección del flujo de agua. E: Entrada de agua; S: Salida de agua. b) Vista en planta de bioreactor I en el canal de desagüe..... 24
- Figura 2. a) Bioreactor II usado en el canal de desagüe. Vista en perfil del bioreactor con los distintos diámetros y largos de tubos, junto con la dirección del flujo de agua. E: Entrada de agua, S: Salida de agua. b) Vista en planta de bioreactores en el canal de desagüe..... 29

CAPÍTULO III: EVALUACIÓN DE UN BIOREACTOR PARA LA RETENCIÓN DE FORMAS NITROGENADAS EN UN CANAL DE DESAGÜE EN UNA MICROCUENCA CON CULTIVO DE MAÍZ GRANO (*ZEAMAYS* L.)

- Figura 1. Ubicación del sitio experimental. En los ejes X e Y se muestran las coordenadas UTM. Además se aprecian los potreros que alimentan al canal de desagüe (1 - 2 - 3)..... 41
- Figura 2. a) Localización de los bioreactores (bloques) en el canal de desagüe. Las flechas color blanco indican la ubicación de los bioreactores en el canal, mientras que la flecha negra indica la dirección del flujo de agua. b) Bioreactores observados de un plano superior en el canal de desagüe. 42
- Figura 3. Precipitación (pp) medida e informada por DGA para la estación Pichidegua, junto con temperatura media mensual (T) medidas en el lugar de estudio (Temporada 2013-2014). 45
- Figura 4. Concentración media de nitrógeno-nitrato (N-NO₃) (mg L⁻¹) en el canal de desagüe en distintas fechas de medición. Además se presenta el estándar de calidad de agua en Chile dado por el INN (2005). 46
- Figura 5. Eficiencia de remoción de nitrógeno-nitrato (N-NO₃) (%), en las distintas fechas de medición. Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas entre fechas de medición según prueba DGC ($p < 0,05$, ANDEVA) Línea vertical indica \pm desviación estándar..... 50

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

EVALUACIÓN DE UN BIOREACTOR PARA LA RETENCIÓN DE FORMAS NITROGENADAS EN UN CANAL DE DESAGÜE EN UNA MICROCUCENCA CON CULTIVO DE MAÍZ GRANO (*ZEAMAYS L.*)

1. Nitrógeno y su relevancia con la contaminación difusa

La agricultura intensiva, debido de la demanda de producción de alimentos, además de la producción de energía (Vitousek *et al.*, 1997; Canfield *et al.*, 2010), ha aumentado significativamente desde la revolución industrial. Sumado a esto, las altas dosis de fertilizantes en el mundo (Van den Heuvel, 2010), han contribuido al aumento de la contaminación difusa de nitrógeno (N) y fósforo (P) de origen agrícola en cuerpos de agua superficiales y subsuperficiales (Keeney, 1986; Melian *et al.*, 1999; Rodvang y Simpkins, 2001).

El nitrógeno (N) es uno de los nutrientes esenciales de la biota acuática y limitante de la productividad primaria. Al estar en exceso en el medio, formas tales como nitrato (NO_3^-), amonio (NH_4^+) o el óxido nitroso (N_2O), tienen efectos adversos sobre el ambiente: contaminación de cursos de agua, eutrofización, hipoxia permanente, proliferación de algas dañinas de ríos, lagos, aguas costeras, aumento de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) y contribución al proceso de agotamiento del ozono estratosférico (Galloway *et al.*, 2004; Galloway *et al.*, 2008; Canfield *et al.*, 2010; Howarth *et al.*, 2002; Phoenix *et al.*, 2006; Rabalais, 2002).

En algunas regiones de Europa, las concentraciones de N en los ríos, lagos, y zonas costeras son altas y las concentraciones de NO_3^- en aguas subterráneas también van en aumento (Grizzetti *et al.*, 2012). Junto con éstas altas concentraciones, los tiempos de residencia de los contaminantes que se movilizan a través del suelo, subsuelo y los acuíferos pueden ser de meses (por ejemplo, con buen drenaje y alta permeabilidad), a años (drenaje moderado y baja permeabilidad) (Fenton *et al.*, 2011).

Es importante destacar que existen dos tipos de fuentes de contaminación de cuerpos de agua: las puntuales (FP) y las fuentes no puntuales o difusas (FNP). La contaminación de FP incluye principalmente las descargas de aguas residuales municipales (zonas urbanas) y cargas de aguas residuales industriales, mientras que las FNP de contaminación son producidas cuando la lluvia, el derretimiento de la nieve o agua de riego es transportada en sentido vertical u horizontal sobre el suelo, transportando y depositando contaminantes en cuerpos de agua (Darradi *et al.*, 2012; Ongley *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2008). La contaminación difusa se establece por la sumatoria de estos aportes individuales imperceptibles desde distintos sitios, los que se prolongan y repiten con periodicidad, generándose con ello efectos acumulativos. Una característica básica de la contaminación difusa es que sus efectos no son locales, sino que tienden a afectar toda una cuenca hidrográfica, incluyendo los sectores costeros asociados (Jarvis, 2002).

Tras décadas de aplicación de leyes de protección de ecosistemas acuáticos en EUA, se redujo la contaminación de las FP, y se determinó que la contaminación por fuentes no puntuales (FNP) constituía la mayor preocupación. Dado esto, la agricultura intensiva sería la mayor colaboradora de las emisiones contaminantes hacia el ambiente (EPA, 2000).

La estimación de cargas contaminantes de FNP, es un reto debido a los complicados procesos hidro-meteorológicos, bioquímicos y de variabilidad espacial involucrados en el proceso de transporte y transformación de contaminantes (Ficklin *et al.*, 2010; Luo *et al.*, 2008; Nikolaidis *et al.*, 1998).

Las tres formas principales de contaminación de FNP agrícola son: el escurrimiento excesivo de sedimentos, nutrientes y pesticidas (Hunt, 1999; Schultz, 2004). La aplicación de fertilizantes y enmiendas orgánicas en campos agrícolas tiene el potencial de contaminar las aguas superficiales a través de varias rutas, incluyendo la escorrentía superficial que se descarga directamente a drenes abiertos y arroyos, junto con la percolación hacia aguas subterráneas. De esta forma, el exceso de fertilizantes nitrogenados puede lixiviar a través del perfil del suelo, comúnmente en forma de NO_3^- (Carpenter *et al.*, 1998; Díaz y Solow, 1999).

2. Nitrato y el proceso de desnitrificación

Respecto al NO_3^- , su origen se debe principalmente a la contaminación atmosférica y la aplicación de fertilizantes nitrogenados de origen natural y sintético, de residuos orgánicos provenientes de plantales ganaderos estabulados, y de lodos de depuradoras (Biederbeck *et al.*, 1996; Hornsby, 2000; Pacheco y Cabrera, 2003; Merino, 2004).

En suelos en donde se han incorporado fertilizantes nitrogenados, entre el 80 - 90% del N lixiviado corresponde a NO_3^- (Luo *et al.*, 2000, EPA 2005), siendo la contaminación difusa de NO_3^- en el agua uno de los factores causantes de la degradación de los recursos hídricos (Machefer y Dise, 2004).

A escala global, el NO_3^- , en concentraciones altas, es el contaminante químico que presenta la mayor distribución en el agua subterránea (Jacinthe *et al.*, 1999; Rao y Putanna, 2000). Es la forma más lábil de N, además, es muy móvil en el agua en comparación a otras formas nitrogenadas, tales como el NH_4^+ (menos propenso a la lixiviación, al estar ligado principalmente a las partículas de suelo). La lixiviación de N depende de la carga neta del suelo y de la capacidad de adsorción de aniones de los suelos que, por lo general, es baja (Armstrong and Burt, 1993); lixiviana más intensamente en suelos permeables (arenosos) que en suelos más pesados (arcillosos), donde la escorrentía superficial es predominante. El drenaje artificial puede exacerbar el riesgo, ya que acelera los flujos de agua asociados a N (Gilliam *et al.*, 1999). De esta forma, el destino y transporte de las aguas subterráneas poco profundas, y junto con ella el NO_3^- , está fuertemente ligado a la geomorfología del paisaje (Hill, 1996).

Los factores de eliminación de NO_3^- son complejos, dependiendo de la concentración en el agua, la biomasa de comunidades desnitrificantes, la temperatura y la biodisponibilidad de carbono (C). Además de poder ser reducido por prácticas agrícolas de control de fertilización, vinculando los

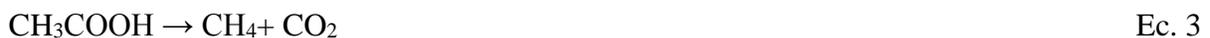
conceptos de manejo eficiente y racional de los fertilizantes nitrogenados (Böhlke *et al.*, 2004; McMahon *et al.*, 2006; Schipper *et al.*, 2010).

Al mismo tiempo se ha demostrado que los niveles elevados de NO_3^- en el agua potable pueden causar distintas enfermedades. En el cuerpo, el principal efecto biológico del NO_3^- , transformado a nitrito (NO_2^-), está asociado a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina, la que es incapaz de transportar oxígeno a los tejidos; esta condición denominada metahemoglobinemia causa cianosis y en concentraciones mayores el síndrome de niños azules (asfixia); mientras que en adultos, puede llegar a causar cáncer gástrico (Fleming y Adams, 1997; OMS, 2007). Teniendo en cuenta los posibles efectos negativos del consumo de NO_3^- sobre la salud humana y el ambiente, hay una necesidad de una mejor comprensión y mitigación de la contaminación por NO_3^- en las aguas subterráneas en todo el mundo.

El proceso biológico de mayor incidencia en la eliminación de NO_3^- y NO_2^- es la desnitrificación heterótrofa (Coyne, 2008; Greenan *et al.*, 2006; Rivett *et al.*, 2008; Seitzinger *et al.*, 2006; Yimin y Mehdi, 2012). En este proceso, las bacterias heterótrofas desnitrificantes del género *Bacillus* (Flores *et al.*, 2007) y *Corynebacterium*, entre otras (Inés *et al.*, 2011), convierten en condiciones anóxicas el NO_3^- o NO_2^- a formas gaseosas; esto es, óxido nitroso (N_2O) o dinitrógeno (N_2), utilizando C como fuente donadora de electrones. Aunque puede ocurrir una completa reducción de NO_3^- a N_2 durante la desnitrificación (Ec. 1), esta conversión implica varios pasos intermedios donde el NO_3^- se reduce a NO_2^- , óxido nítrico (NO) y también a N_2O , como se indica en Ec. 2 (Delwiche, 1981):



De la degradación anaerobia de los grupos funcionales orgánicos también resulta la producción de CO_2 , junto con CH_4 , (Ec. 3), ambos GEI.



El N_2O generado es también un potente GEI, que se produce en la mayoría de los entornos desnitrificantes, pero si las condiciones son fuertemente reductoras, el N_2O se reduce aún más a N_2 y no persiste en el ambiente. El N_2O como un GEI es 300 veces más eficaz que el CO_2 , contribuye al agotamiento del ozono estratosférico, siendo un producto indeseable de la reducción de NO_3^- (Cavigelli y Robertson, 2000).

Como proceso heterótrofo, la desnitrificación juega un papel particularmente importante en los sistemas costeros enriquecidos con N, ya que disminuye la cantidad de N fijado transportado al océano, reduciendo el N disponible para la producción primaria (Beman *et al.*, 2005 y Catarina *et al.*, 2010). Este proceso se ve afectado por las variaciones de fuente de C, oxígeno disuelto (OD), pH, la temperatura, presencia o la acumulación de NO_2^- y NH_4^+ durante el proceso (Xu *et al.*, 2009; Cameron y Schipper, 2010).

3. Susceptibilidad a la contaminación en la Región del Libertador Bernardo O'Higgins

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

El cultivo de maíz ha sido identificado como un importante contribuyente en la contaminación difusa de zonas de regadío en todo el mundo (Díez *et al.*, 1997; Causapé *et al.*, 2004; Strock *et al.*, 2004). Asociado a la baja absorción de fertilizantes nitrogenados, con eficiencias menores al 50% (Bundy y Andraski, 2005; Gabriel y Quemada, 2011), gran parte del N remanente en el suelo es vulnerable a la lixiviación durante el período de barbecho y lluvias (Dinnes *et al.*, 2002).

En la actualidad en la Región de O'Higgins, se realiza un cultivo intensivo de maíz grano, donde se sembraron con esta especie 47.748 ha durante la temporada 2013-2014 (INE-Chile, 2014), representando un 40% del total producido a nivel nacional (ODEPA-Chile, 2014).

Nájera *et al.* (2015), evaluando dosis de N, fósforo (P) y potasio (K) en 31 predios con maíz para grano en la temporada 2012-2013, observan dosis de N (mezcla maicera y urea) entre 350 y 520 kg N ha⁻¹, mientras que Donoso *et al.* (1999) indican niveles de hasta 450 kg N ha⁻¹. Así, al realizar un balance de N (rendimientos obtenidos, aporte de N desde el suelo y eficiencia de aplicación), concluyen que todos los agricultores realizan una sobre fertilización con este elemento.

Por otra parte, más del 40% del agua consumida en las zonas urbanas de Chile es subterránea, y en zonas rurales alcanza valores del 76%. De esta forma, si sólo se considera la zona ubicada entre la Región Metropolitana y la Región del Bío Bío (33-38°S), más del 83% del agua potable para consumo se obtiene de aguas subterráneas (Pizarro *et al.*, 1999).

El estándar de calidad de agua de Chile establece un límite máximo de NO₃⁻ de 50 mg NO₃⁻ L⁻¹ (INN, 2005), que expresado en nitrógeno como nitrato (N-NO₃) se asemeja al valor 10 mg L⁻¹ que ha sido establecido en los Estados Unidos (USEPA, 2014) y por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2003). Además, cabe destacar, que en condiciones naturales la concentración de N-NO₃ en aguas es inferior a 5 mg N-NO₃ L⁻¹ (Mueller *et al.*, 1995; Weyer, 2001).

Iriarte (2007), señala que la sub cuenca baja del río Cachapoal se caracteriza porque gran parte de sus suelos de uso agrícola facilitarían que el N-NO₃ pueda contaminar el agua subterránea, dadas sus propiedades y el tipo de manejo a que se someten. El autor informa que el 67% de los valores observados, no superan los 10 mg N-NO₃ L⁻¹. Donoso *et al.* (1999) analizan 45 localidades distribuidas en todo Chile y sólo en un lugar de la Región Metropolitana, encontraron valores superiores a 10 mg N-NO₃ L⁻¹. Más aún, en el sector de Peumo (Región de O'Higgins) sólo se encontraron concentraciones menores al límite máximo establecido (Arumí, 2005).

4. Medidas de mitigación y tipos de bioreactores desnitrificantes

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 1997), describe que el manejo de las FNP de contaminación difusa debe estar dirigido hacia tres de los factores más importantes de contaminación de recursos hídricos: el uso de fertilizantes, plaguicidas y la contaminación provocada por sedimentos. Estos deben estar integrados de tal forma que las distintas prácticas de manejo estén enfocadas al cuidado de cuencas hidrográficas, y al uso eficiente del agua de riego, determinante a la hora de eliminar o disminuir niveles de contaminantes tóxicos en agua de consumo humano.

El Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales del Reino Unido (DEFRA, 2011), nombra 44 prácticas que describen el control de la contaminación difusa en aguas. Estas prácticas se incluyen dentro de siete categorías de mitigación, es decir: uso y manejo del suelo, manejo de fertilizantes, manejo del ganado, manejo del estiércol, manejo de cultivos e infraestructura.

En general, enfrentar una situación de contaminación en el suelo y aguas de origen agrícola requiere un estudio multidisciplinario que incluye, identificación de la naturaleza del contaminante, magnitud del evento de contaminación, caracterización completa del suelo, caracterización del entorno, especialmente clima, y el uso proyectado del recurso. Todo lo anterior, orientado a 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 (Sepúlveda *et al.*, 2011).

Dentro de las distintas prácticas de manejos de contaminación difusa, Dinnes (2004) precisa, que las más notables son los cultivos de cobertura, sistemas de exclusión de ganado de las zonas cercanas a cuerpos de aguas, y los biofiltros. Aunque algunas de estas prácticas pueden reducir sustancialmente la pérdida de nutrientes en FNP, por sí sola no puede ser capaz de reducir estas pérdidas en la medida necesaria para cumplir las normas de calidad del agua. Los cultivos de cobertura es una práctica beneficiosa para reducir las pérdidas de nutrientes y sedimentos de los campos agrícolas y mejorar la calidad del agua, además de aumentar el contenido de materia orgánica del suelo (Hargrove, 1991; McCracken *et al.*, 1994; Thorup – Kristensen *et al.*, 2003; USDA, 2013). Por otro lado, los biofiltros corresponden a una asociación vegetal, conformada por especies herbáceas, arbustivas y/o arbóreas, que se ubican en forma perpendicular al avance de la escorrentía y paralela al cauce que la recibe desde las áreas de cultivo (Gilliam, 1994; Muscutt *et al.*, 1993). En éstas se ha demostrado parte de la eficacia de amortiguación en la reducción de sedimentos y la carga de nutrientes en el flujo superficial (Dosskey, 2001), mostrando una reducción de hasta un 90% de la concentración de zonas contaminadas (Haycock y Pinay, 1993; Jordan *et al.*, 1993; Clausen *et al.*, 2000; Dinnes *et al.*, 2002; Vymazal *et al.*, 2006 y Schipper *et al.*, 2010). En la zona central de Chile estudios realizados por Salazar *et al.* (2015) informan eficiencias mayores al 50%, determinando que las especies forrajeras son las más eficientes para captar N-NO₃ en flujos laterales subsuperficiales. Eficiencias similares son indicadas por Tapia y Villavicencio (2007), precisando que el tipo de biofiltro depende del contaminante que se quiera remover.

Con respecto a la fertilización, las restricciones ambientales a la agricultura implican que el manejo de N debe ajustarse a los requerimientos del cultivo, siendo éstos determinados por los objetivos de rendimiento (Tapia y Villavicencio, 2007; Parodi, 2010). Se mejora así la eficiencia de uso de N en los cultivos y el manejo de insumos nitrogenados a través de los análisis de suelo, a fin de decidir la dosis y fechas más adecuadas para las aplicaciones del elemento (Sims *et al.*, 1995; Drury *et al.*, 1996; Dinnes *et al.*, 2002; Jaynes *et al.*, 2004).

Otra alternativa que se ha llevado a cabo en los últimos 20 años son los bioreactores desnitrificantes. Estas estructuras o dispositivos se llenan con un material sólido como fuente de C y están diseñados para interceptar aguas subterráneas poco profundas en sistemas de drenaje natural o artificial, y reducir el N-NO₃ mediante el proceso de desnitrificación. El proceso se lleva a cabo vía degradación microbiana del C orgánico producida naturalmente en suelos y acuíferos, utilizando materiales ricos en C y creando las condiciones óptimas para que ocurran altas tasas de desnitrificación (Schipper *et al.*, 2010).

Para el óptimo funcionamiento de los bioreactores desnitrificantes, éstos se deben instalar en un flujo de agua superficial o subsuperficial. El bioreactor podrá funcionar de forma eficiente siempre y cuando el flujo de agua pueda generar condiciones de anaerobiosis dentro del bioreactor, de tal forma que las bacterias anaeróbicas utilicen el C de la fuente orgánica, junto con el N-NO₃ (Christianson, 2011).

Hay varios diseños que utilizan fuentes de C sólidas para mejorar la desnitrificación, los que se diferencian por la conexión hidrológica entre el agua que contiene N-NO₃ y el área de tratamiento (Robertson y Cherry, 1995). Uno de estos diseños es el muro o pared desnitrificante, en que el material orgánico se incorpora verticalmente en el suelo o aguas subterráneas poco profundas, por lo que el bioreactor queda perpendicular al flujo de agua. Estos flujos interceptados pueden ser caminos subterráneos naturales, o vías de flujo de aguas que han sido alterados por los sistemas de drenaje (Schipper *et al.*, 2010).

Schipper y Vojvodić-Vuković (2001), realizaron un estudio de 5 años utilizando una pared de desnitrificación de 78 m³ rellena con aserrín de pino; reportan una eficiencia de 95% en la remoción de N-NO₃ en aguas subterráneas poco profundas, en donde además se destacó que no hubo disminución del C total del material vegetal. De una forma similar Schmidt *et al.* (2012), con un bioreactor de 168 m³, relleno con aserrín de pino, encuentran niveles de remoción de N-NO₃ de un 65%. Mientras que Jaynes *et al.* (2008), utilizando los mismos materiales durante 5 años, la concentración de N-NO₃ en el flujo promedió 8,8 mg N-NO₃ L⁻¹ en el agua de drenaje tratada en comparación con 22 mg N-NO₃ L⁻¹ en el agua de drenaje sin bioreactores.

Otro tipo de bioreactores son las camas de desnitrificación; es decir, contenedores rellenos de astillas de madera que reciben descargas concentradas de N-NO₃ (Blowes *et al.*, 1994, Robertson *et al.*, 2005; Robertson *et al.*, 2009; Robertson y Merkley, 2009; Schipper *et al.*, 2010). Se han instalado en lechos de arroyos o drenes abiertos de drenajes (Robertson y Merkley, 2009), y a diferencia de los muros desnitrificantes, el área de tratamiento en camas suele ser mucho mayor, debido a que las redes de drenaje natural o artificial que interceptan al bioreactor son mayores. Elgood *et al.* (2010), durante un año trabajaron con una cama desnitrificante con un volumen total de 40 m³, relleno con aserrín de pino, presentando eficiencias de remoción de N-NO₃ de un

53%. Eficiencias similares presentaron Chun *et al.* (2011), con un bioreactor de cama de 17 m³, relleno con el mismo material, pero con una eficiencia de eliminación de N-NO₃ de 47%.

La eliminación de N-NO₃ en estos sistemas es compleja, dependiendo de la concentración, la biomasa de la comunidad desnitrificante, la temperatura, la biodisponibilidad de C (Schipper *et al.*, 2010), la hidráulica y el oxígeno disuelto (Grennan *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2009). A altas cargas de N-NO₃, la comunidad microbiana puede estar saturada, por lo que la cantidad eliminada será constante, mientras que a concentraciones más bajas, las tasas de desnitrificación serán proporcionales a la concentración en el medio (Schipper *et al.*, 2010; Chun *et al.*, 2010). En el Cuadro 1, se observan estudios realizados en el último tiempo sobre los tipos de bioreactores mencionados anteriormente.

Cuadro 1. Estudios de distintos tipos de bioreactores, en donde se evaluó la remoción de nitrógeno-nitrato (N-NO₃), además de los distintos materiales orgánicos utilizados.

Tipo de bioreactor	Tamaño bioreactor ---- m ³ ----	Material orgánico	Periodo de medición*	Remoción N-NO ₃ ---- % ----	Referencia y país
Cama	N. D	Astilla de madera	1993 - 1994	99%	Blowes <i>et al.</i> (1994), Canadá
Cama	13,7	Astilla de madera de pino	2007	47%	Chun, et al. 2010. USA
Cama	40	Astilla de Madera de Pino	2009	53%	Elgood et al. (2010). Canadá
Cama	40	N.D	2007 - 2008	64%	Robertson et al. (2009). USA
Cama	0,7	Astillas de Madera	2001 - 2003	76%	Van Driel et al. (2006). Canada
Muro	168	Astillas de Madera y arena	2009	77%	Schmidt et al. (2012). USA
Muro	78,75	Astillas de Madera	1996 - 2000	95%	Schipper et al. (2001). USA
Muro	160	Astillas de Madera de Pino	2000 - 2001	78%	Fahrner, S. (2002). Australia
Muro	79	Astillas de Madera	2000 - 2005	99%	Jaynes et al. (2008). USA
Muro	78	Astillas de Madera	N.D	90%	Schipper at al. (2005). USA
Muro	1	Astillas y Aserrín de Madera	1992 - 1999	96%	Robertson et al. (2000). USA
Muro	3,3	Astillas de Madera	1999 - 2009	60%	Moorman et al. (2010). USA
Laboratorio	0,03	Astillas de Madera y aserrín de Pino	2005	97%	Healy et al. (2006). Irlanda
Laboratorio	0,008	Astillas de Madera	2006	98%	Greenan et al. (2009). USA

*N.D: No se detalla la información en el artículo.

Se observa que las astillas de madera han sido el material más utilizado en las pruebas de campo y laboratorio, demostrando una capacidad de eliminar N-NO₃ a largo plazo (5 - 15 años).

Estudios de campo muestran que los restos de madera (aserrín y chips), en general, además de tener bajo costo (Moorman *et al.*, 2010), soportan una alta permeabilidad y además tienen una alta relación C/ N (> 30), dependiendo de la fuente y el tipo de madera (Vogan, 1993; Gibert *et al.*, 2008), traducándose en una mayor vida útil del bioreactor, ya que estos tipos de restos vegetales tardan largo tiempo en descomponerse (Robertson *et al.*, 2009). Por el contrario, dada

estas características no se recomienda material vegetal con alto contenido de N, ya que puede ser rápidamente degradado (Christianson, 2011).

Si bien las fuentes de C más lábiles (grano de maíz, material verde, etc.) requieren una reposición más frecuente debido al rápido agotamiento de C en el medio, soportan mayores tasas de eliminación de N-NO₃. Cameron y Schipper (2010), encontraron que las mazorcas de maíz tienen una tasa de eliminación de N-NO₃ de 6,5 veces más alta que los restos de madera sobre un período de 24 meses.

Otro aspecto a tomar en cuenta, es el tamaño de partículas de los restos de madera en bioreactores. Varios estudios han encontrado diferencias significativas en las tasas de remoción de N-NO₃ a diferentes tamaños de estos restos (Carmichael, 1994; Robertson *et al.*, 2000; Van Driel *et al.*, 2006). Van Driel *et al.* (2006), realizan una comparación de partículas en dos camas de desnitrificación, uno construido con partículas gruesas de madera (astillas de madera, 1 - 50 mm) y la otra construida con partículas finas (aserrín, 1-5 mm), midiendo tasas de remoción de 5,9 g N m⁻³ d⁻¹ para los medios gruesos y una tasa similar de 5,5 g N m⁻³ d⁻¹ para los medios finos. De la misma forma Cameron y Schipper (2010), evalúan cinco tamaños de partículas de *Pinus radiata*, en donde las tasas de eliminación de N-NO₃ fueron similares.

También es importante evaluar en los bioreactores la temperatura, ya que las tasas de reacciones biológicas aumentan junto a ésta, existiendo una relación positiva con el N-NO₃ (Robertson *et al.*, 2008; Robertson *et al.*, 2009; Cameron y Schipper, 2010). Por el contrario, diversos autores señalan que a temperaturas bajas de los efluentes (1 - 5 °C), existe una moderada velocidad de eliminación de NO₃⁻ (Robertson y Merkley, 2009; Robertson *et al.*, 2009; Elgood *et al.*, 2010).

En la actualidad, los restos de madera, han sido el material más utilizado en las pruebas de campo, demostrando una capacidad de entregar buenos resultados de eliminación de N-NO₃ a largo plazo (5-15 años), requiriendo un mínimo de mantención (Robertson *et al.*, 2000; Robertson *et al.*, 2008; Robertson *et al.*, 2009; Schipper y Vojvodic-Vukovic, 2001; Fahrner, 2002; Schipper *et al.*, 2005; Jaynes *et al.*, 2008). Además, el bajo costo de las astillas de madera lo hace una tecnología económica a la hora de evaluar medidas de mitigación (Gibert *et al.*, 2008); junto con que gran parte de los materiales nombrados anteriormente son de fácil acceso para los agricultores, por lo que su implementación no sería tan compleja. Finalmente, a diferencia de otras medidas de mitigación, el área utilizada por la construcción de bioreactores no es muy considerable para la producción agrícola (Kalita *et al.*, 2007).

Una pregunta sobre el uso de bioreactores es el grado de producción de N₂O. Si el N-NO₃ es completamente reducido a N₂, entonces no hay problemas de degradación ambiental. Sin embargo, si el N-NO₃ es reducido a N₂O (GEI), un problema podría ser sustituido por otro. Además, la conversión total a N₂ en el campo es compleja, dependiendo del clima, la hidrología, y la concentración de N-NO₃ (Greenan *et al.*, 2009)

En la zona Central de Chile no se han realizado estudios sobre bioreactores, por lo tanto es una contribución realizar experiencias en cuerpos de agua superficial. Esto permitiría identificar los factores más importantes a la hora de implementar esta medida de mitigación, junto con los distintos materiales orgánicos que se podrían utilizar.

LITERATURA CITADA

Armstrong, A.C and T.P. Burt. 1993. Nitrate losses from agricultural land. In: Burt, T.P., Heathwaite, A.L., Trudgill, S.T. (Eds.), Nitrate-Processes, patterns and management. John Wiley & Sons, UK. 239 - 267 p.

Arumi, J.L; R. Oyarzún and M. Sandoval. 2005. Natural protection against groundwater pollution by nitrates in the Central Valley of Chile. *Hydrological Sciences Journal*. 50: 331 - 340.

Beman, J.M., K.R. Arrigo and P.A Matson. 2005. Agricultural runoff fuels large phytoplankton blooms in vulnerable areas of the ocean. *Nature*. 434: 211 – 214.

Biederbeck, V; C. Campbell; H. Ukrainetz; D. Curtin and 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.

Blowes, D.W; W.D. Robertson; C.J. Ptacek and C. Merkle. 1994. Removal of agricultural nitrate from tile-drainage effluent water using in-line bioreactors. *Journal of Contaminant Hydrology*. 15: 207 – 221.

Böhlke, J; J. Harvey and 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.

Bundy, L.G and T.W. Andraski. 2005. Recovery of fertilizer nitrogen in crop residues and cover crops on an irrigated sandy soil. *Soil Science Society of America Journal*, 69: 640 – 648.

Cameron, S.C and L.A. Schipper. 2010. Nitrate removal and hydraulic performance of carbon substrates for potential use in denitrification beds. *Ecological Engineering*. 36: 1588 – 1595.

Canfield, D.E., Glazer, A.N., Falkowski, P.G. 2010. The Evolution and future of earth's nitrogen cycle. *Science*. 330: 192 - 196.

Carmichael, P.A. 1994. Using Wood Chips as a Source of Organic Carbon in Denitrification: A Column Experiment and Field study Implementing the Funnel and gate Design. M.Sc. Thesis. Dept Earth Sci., University of Waterloo, Waterloo, Canada.

Carpenter, S.R; N.R. Caraco; D.L. Correll; R.W. Howarth; A.N. Sharpley and V.H. Smith. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*. 8: 559 – 568.

Catarina, T; M. Catarina; A.R. Rui and A.B. Adriano. 2010. Potential rates and environmental controls of denitrification and nitrous oxide production in a temperate urbanized estuary. *Marine Environmental Research*. 70: 336 – 342.

- Causapé, J; D. Quilez and R. Aragues. 2004. Assessment of irrigation and environmental quality at the hydrological basin level – II. Salt and nitrate loads in irrigation return flows. *Agricultural Water Management*. 70: 211 – 228.
- Cavigelli, M.A and G.P. Robertson. 2000. The functional significance of denitrifier community composition in a terrestrial ecosystem. *Ecology*. 81: 1402 – 1414.
- Chun, J.A; R.A. Cooke; J.W. Eheart and J. Cho. 2010. Estimation of flow and transport parameters for woodchip-based bioreactors: II. Field - scale bioreactor. *Biosystems Engineering*. 15: 95 – 102.
- Clausen, J.C; K. Guillard; C.M. Sigmund and K. Martin. 2000. Water quality changes from riparian buffer restoration in Connecticut. *Journal of Environmental Quality*. 29: 1751 – 1761.
- Coyne, M.S. 2008. Biological denitrification. In: Schepers, J.S., Raun, W. (Eds.), Nitrogen in Agricultural Systems. ASA-CSSSA-SSSA Agronomy Monograph 49, Madison, WI, 197 – 249 p.
- Darradi, Y; E. Saur; R. Laplana; J.M. Lescot; V. Kuentz and B.C Meyer. 2012. Optimizing the environmental performance of agricultural activities: A case study in La Boulouze watershed. *Ecological Indicators*. 22: 27 – 37.
- DEFRA. 2007. An inventory of methods to control diffuse water pollution from agriculture (DWPA). User manual. Department for Environment, Food and Rural Affairs, UK. 113 p.
- Delwiche, C.C. 1981. The nitrogen cycle and nitrous oxide. In: Delwiche, C.C. (Ed.), Denitrification, Nitrification, and Atmospheric Nitrous Oxide.
- Wiley, J; R.J. Diaz and A. Solow. 1999. Ecological and Economic Consequences of Hypoxia: Topic 2 Report for the Integrated Assessment on Hypoxia in the Gulf of Mexico. NOAA Coastal Ocean Program, Decision Analysis Series No. 16. United States Department of Commerce, Washington, DC, Available at: http://www.oceanservice.noaa.gov/products/hypox_t2final.pdf.
- Diez, J.A; R. Roman. R. Caballero and A. Caballero. 1997. Nitrate leaching from soils under a maize–wheat–maize sequence two irrigation schedules and three types of fertilisers. *Agric. Ecosystems Environmental*. 65: 189 – 199.
- Dinnes, D. 2004. Assessments of practices to reduce nitrogen and phosphorus nonpoint source pollution of Iowa's surface waters. Prepared for the Iowa Department of Natural Resources In Cooperation with the USDA-ARS National Soil Tilth Laboratory. US. 366 p.
- Dinnes, D.L; D.L. Karlen; D.B. Jaynes and T.C. Kaspar; J.L. Hatfield; T.S. Colvin and C.A. Cambardella. 2002. Nitrogen management strategies to reduce nitrate leaching in tile-drained Midwestern soils. *Agronomy journal*. 94: 153 – 171.

Donoso, G; J. Cancino and A. Magri. (1999) Effects of agricultural activities a water pollution with nitrates and pesticides in the central valley of Chile. *Water Science and Technology*. 39: 49 - 60.

Dosskey, M.G., 2001. Toward quantifying water pollution abatement in response to installing buffers on cropland. *Environmental Management*. 28: 577–598.

Drury, C.F; C.S. Tan; J.D. Gayner; T.O. Olaya and T.W. Welacky. 1996. Influence of controlled drainage-subsurface irrigation on surface and tile drainage nitrate loss. *Journal of Environmental Quality*. 25: 317 – 324.

Elgood, Z; W.D. Robertson and S.L. Schiff. 2010. Greenhouse gas production in a stream bed bioreactor for nitrate removal. *Journal of Ecological Engineering*. 3: 1575 – 1580.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 2000. Office of Transportation and Air Quality. National Water Quality Inventory, EPA, Washington, DC.

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 p.

Fahrner, S. 2002. Groundwater Nitrate Removal using a Bioremediation Trench. Honours Thesis. University of Western Australia, Perth.

FAO. 1997. Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los Recursos Hídricos. Estudio FAO Riego y Drenaje – 55, Canadá. 107 p.

Fenton, O; R.O. Schulte; P. Jordan; S. Lalor and K.G. Richards. 2011. Time lag: a methodology for the estimation of vertical and horizontal travel and flushing timescales to nitrate threshold concentrations in Irish aquifers. *Environmental Science and Policy*. 14: 419 – 431.

Ficklin, D.L; Y.Z. Luo; E. Luedeling; S.E. Gatzke and M.H. Zhang. 2010. Sensitivity of agricultural runoff loads to rising levels of CO₂ and climate change in the San Joaquin Valley watershed of California. *Environmental Pollution*. 158: 223 – 234.

Fleming, R.A and R.M. Adams. 1997. The importance of site-specific information in the design of policies to control pollution. *Journal of Environmental Economics and Management*. 33: 347 – 358.

Flores, L; S.C. Winans and G. Holguin. 2007. Molecular characterization of diazotrophic and denitrifying bacteria associated with mangrove roots. *Applied and Environmental Microbiology*. 73: 7308 – 7321.

Gabriel, J.L., Quemada. 2011. Replacing bare fallow with cover crops in a maize cropping system: yield, N uptake and fertiliser fate. *Journal of Agrobiology*. 34: 133 – 143.

Galloway, J.N; F.J. Dentener; D.G. Capone; E.W. Boyer; R.W. Howarth; S.P. Seitzinger; S.P. Asner; C.C. Cleveland; P.A. Green; E.A. Holland; D.M. Karl; A.F. Michaels; J.H. Porter; A.R. Townsend and C.J. Vorosmarty. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*. 70: 153 - 226.

Galloway, J.N; A.R. Townsend; J.W. Erisman; M. Bekunda; Z. Cai; J.R. Freney; L.A. Martinelli; S.P. Seitzinger and M.A. Sutton. 2008. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions and potential solutions. *Science*. 320: 889 - 892.

Gibert, O; S. Pomierny; I. Rowe and R.M. Kalin. 2008. Selection of organic substrates as potential reactive materials for use in a denitrification permeable reactive barrier (PRB). *Bioresource Technology*. 99: 7587 – 7596.

Gilliam, J.W., 1994. Riparian wetlands and water quality. *Journal of Environmental*. 23: 896 - 900.

Gilliam, J.W; J.L Baker and K.R. Reddy. 1999. Water quality effects of drainage in humid regions. In: Skaggs, R.W., Van Schilfgaarde, J. (Eds.), *Agricultural Drainage. Agronomical Monographs*. 38: 801 – 830.

Greenan, C.M; T.B. Moorman; T.C. Kaspar; T.B. Parkin and J.B. Jaynes. 2006. Comparing carbon substrates for denitrification of subsurface drainage water. *Journal of Environmental Quality*. 35: 824 – 829.

Greenan, C.M; T.B. Moorman; T.C. Kaspar; T.B. Parkin and J.B. Jaynes. 2009. Denitrification in wood chip bioreactors at different water flows. *Journal of Environmental Quality*. 38: 1664 – 1671.

Grizzetti, B; F. Bouraoui and A. Aloe. 2012. Changes in nitrogen and phosphorus loads to European seas. *Global Change Biology*. 18: 769 – 782.

Hargrove, W.L. 1991. *Cover Crops for Clean Water*. Soil and Water Conservation Society, Ankeny, IA, USA.

Haycock, N.E and G. Pinay. 1993. Groundwater nitrate dynamics in grass and poplar vegetated riparian buffer strips during the winter. *Journal of Environmental Quality*. 22: 273 – 278.

Healy, M.G; M. Rodgers and J. Mulqueen. 2006. Denitrification of a Nitrate-Rich Synthetic Wastewater Using Various Wood-Base Media Materials. *Journal of Environmental Science and Health*. 41: 779 – 788.

- Hill, A.R. 1996. Nitrate removal in stream riparian zones. *Journal of Environmental Quality*. 25: 743 – 755.
- 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. 102 p.
- Howarth, R.W; A.W. Sharpley and D. Walker. 2002. Sources of nutrient pollution to coastal waters in the United States: implications for achieving coastal water quality goals. *Estuaries*. 25: 656 - 676.
- Hunt, J.W; B.S. Anderson; B.A. Phillips; R.S. Tjeerdema; H.M. Puckett and V. Vlaming. 1999. Patterns of aquatic toxicity in an agriculturally dominated coastal watershed in California. *Agriculture, Ecosystems and the Environment*. 75: 75 – 91.
- INE-Chile. 2014. [En línea] Informe cultivos anuales esenciales temporada 2013 - 2014. Superficie Sembrada, producción y rendimiento año agrícola 2013 - 2014. [http://www.ine.cl/canales/menu/publicaciones/calendario_de_publicaciones/pdf/informe_anual_agropecuarias_2013.pdf]
- Inés, V; B. Nico; V. Paul and H. Kim. 2011. Denitrification is a common feature among members of the genus Bacillus. *Systematic and Applied Microbiology*. 34: 385 – 391.
- INN (Instituto Nacional de Normalización). 2005. Norma Chilena Oficial Para Agua Potable, Nch 409/1.Of 2005 (Chilean standard for drinking water). Instituto Nacional de Normalización, Chile.
- Iriarte, A. 2007. Evaluación espacial de la lixiviación potencial de nitratos en suelos de la subcuenca del río Cachapoal bajo. Santiago, Chile. 124 p.
- Jacinte, P. A; W.A. Dick and L.C. Brown. 1999. Bioremediation of nitrate contaminated shallow soils using water table management techniques: nitrate removal efficiency. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*. 42: 1251 - 1259.
- Jaynes, D.B; D.L. Dinnes; D.W. Meck; D.W. Karlen; C.A. Camberella and T.S. Colvin. 2004. Using the late spring nitrate test to reduce nitrate loss within a watershed. *Agronomy Journal*. 33: 669 – 677.
- Jaynes, D.B; T.C. Kaspar; T.B. Moorman and T.B. Parkin. 2008. In situ bioreactors and deep drain-pipe installation to reduce nitrate losses in artificially drained fields. *Journal of environmental Quality*. 37: 429 – 436.
- Jordan, T.E; D.L. Correll and D.E. Weller. 1993. Nutrient interception by a riparian forest receiving inputs from adjacent cropland. *Journal of Environmental Quality*. 22: 467 – 473.

- Kalita, P.K; R.A. Cooke S.M. Anderson; M.C. Hirschi and J.K. Mitchell. 2007. Subsurface Drainage and Water Quality: The Illinois Experience. *Transactions of the American Society of Agricultural and Biological Engineers*. 50: 1651 – 1656.
- Keeney, D. 1986. Sources of nitrate to ground water. *Criteria Review Environmental Control*. 16: 257 - 304.
- Li, R., Feng, C., Chen, N., Zhang, B., Hao, C., Peng, T., Zhu, X. 2014. A bench-scale denitrification wall for simulating the in-situ treatment of nitrate-contaminated groundwater. *Ecological Engineering*. 73: 536 – 544.
- Schipper L.A; W.D. Robertson; A.J. Gold; D.B Jaynes; S.T. Cameron. 2010. Denitrifying bioreactors — An approach for reducing nitrate loads to receiving waters. *Ecological Engineering*. 36: 1532 – 1543.
- Luo, J; R. Tillman and P. Ball. 2000. Nitrogen loss through denitrification in a soil under pasture in New Zealand. *Soil Biology and Biochemistry*. 32: 497 - 509.
- Luo, Y.Z; X.Y. Zhang; X.M. Liu; D. Ficklin and M.H Zhanga, 2008. Dynamic modeling of organophosphate pesticide load in surface water in the northern San Joaquin Valley watershed of California. *Environmental Pollution*. 156: 1171 – 1181.
- Mchefert, S. and N. Dise. 2004. Hydrological controls on denitrification in riparian ecosystems. *Hydrology & Earth System Sciences*. 8: 686 - 694.
- McCracken, D.V; M.S. Smith; J.H. Grove; C.T. Mackown and R.L. Blevins. 1994. Nitrate leaching as influenced by cover cropping and nitrogen-source. *Soil Science Society of America Journal*. 58: 1476 – 1483.
- McMahon, P; K. Dennehy; B. Bruce; J. Bölhke; R. Michel; J., Gurdak and 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.
- Melian, R; N. Myrlian; A. Gouriev; C. Moraru and F. Radstake. 1999. Groundwater quality and rural drinking water supplies in the Republic of Moldova. *Hydrogeology Journal*. 2: 188 - 196.
- 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 p.
- Moorman, T.B; T.B. Parkin; T.C. Kaspar and D.B. Jaynes, D.B. 2010. Denitrification activity, wood loss, and N₂O emissions over 9 years from a wood chip bioreactor. *Ecological Engineering*. 36: 1567 – 1574.

- Mueller, D; P. Hamilton; D. Helsen; K. Hitt and B. Ruddy. 1995. Nutrients in ground water and surface water of the United States - An Analysis of Data Through 1992. Denver, USA. U.S. Geological Survey Water Resources Investigations Report. 95 - 4031.
- Muscutt, A.D; G.L. Harris; S.W. Baily and D.B Davies. 1993. Buffer zones to improve waterquality: a review of their potential use in UK agriculture. Agriculture, Ecosystems and Environment. 45: 59 – 77.
- Nikolaidis, N.P; H. Heng; R. Semagin and J.C. Clausen. 1998. Non-Linear Response of a Mixed Land Use Watershed to Nitrogen Loading. Agriculture, Ecosystems and Environment. 67: 251 – 265 p.
- ODEPA-Chile. 2014. Cultivos anuales: Superficie, Producción y Rendimientos. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, Ministerio de Agricultura. Disponible en: <http://www.odepa.cl/cultivos-anuales-superficie-produccion-y-rendimientos-4/>. Leído el: 1 de Junio de 2014.
- Ongley, E; X. Zhang and T. Yu. 2010. Current status of agricultural and rural non-point source Pollution assessment in China. Environmental Pollution. 158: 1159 – 1168.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 2007. Nitrate and nitrite in drinking water. Ediciones OMS, Avenida Appia 20, 1211, Génova 27, Suiza. 21 p.
- Pacheco, J y A. Cabrera. 2003. Fuentes principales de nitrógeno de nitratos en aguas subterráneas. Ingeniería. 7: 47 - 54.
- Parodi, P. 2010. Los desafíos de la agronomía. Primera edición. Ediciones Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile. 278 p.
- Phoenix, G.K; W.K. Hicks; S. Cinderby; J.C. Kuylenstierna; W.D. Stock; F.J. Dentener; K.E. Giller; A.T. Austin; A.T. Lefroy; B.S. Gimeno; M.R. Ashmore and P. Ineson. 2006. Atmospheric nitrogen deposition in world biodiversity hotspots: the need for a greater global perspective in assessing N deposition impacts. Global Change Biological. 12: 470 - 476.
- Pizarro, R; C. Salazar; C. Bravo; J. Caro; P. Bravo and P. Carrasco. 1999. Recursos hídricos (Water resources). In: Informe País, Estado del Medio Ambiente en Chile (O. Sunkel, F. Brzovic & M. Romaggi. Eds.). Universidad de Chile, Centro de Análisis de Políticas Públicas, Santiago.
- Rabalais, N. 2002. Nitrogen in aquatic ecosystems. A Journal of the Human Environment. 31: 102 - 112.
- Rao, P. S and K. Puttanna. 2000. Nitrates, agriculture and environment. Current Science. 79: 1163 - 1168.

- Rivett, M.O; S.R. Buss; P.P. Morgan; J.W. Smith and C.D. Bement. 2008. Nitrate attenuation in groundwater: a review of biogeochemical controlling processes. *Water Research*. 42: 4215 – 4232.
- Robertson, W.D and J.A. Cherry. 1995. In situ denitrification of septic-system nitrate using reactive porous media barriers: field trials. *Ground Water*.33: 99 – 111.
- Robertson, W.A; D.W. Blowes; C.J. Ptacek and J.A. Cherry. 2000. Long-term of performance of in situ reactive barriers for nitrate remediation. *Ground Water*. 38: 689 – 695.
- Robertson, W.D., 2000. Treatment of wastewater phosphate by reductive dissolution of iron. *Journal of Environmental Quality*. 29: 1678 – 1685.
- Robertson, W.D; G.I. Ford and P.S. Lombardo. 2005. Wood-based filter for nitrate removal in septic systems. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*. 48: 121 – 128.
- Robertson, W.D; J.L. Vogan and P.S. Lombardo 2008. Nitrate removal rates in a 15-year old permeable reactive barrier treating septic system nitrate. *Ground Water Monitoring Remediation*. 28: 65 – 72.
- Robertson, W.D and L.C. Merkley. 2009. In-stream bioreactor for agricultural nitrate treatment. *Journal of Environmental Quality*. 38: 230–237.
- Robertson, W.D; C.J. Ptacek and S.J. Brown. 2009. Rates of nitrate and perchlorate removal in a 5-year-old wood particle reactor treating agricultural drainage. *Ground Water Monitoring Remediation*. 29: 87 – 94.
- Rodvang, S and W. impkins. 2001. Agricultural contaminants in Quaternary aquitards: A review of occurrence and fate in North America. *Hydrogeology Journal*. 1: 44 – 59.
- Salazar, O; C. Rojas y C. Soto. 2013. Diagnóstico sectorial y acuerdo de producción limpia: Productores de maíz de la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins. (Doc.Téc.), Consejo Nacional de Producción Limpia. Chile: CPL. 217 p.
- Schipper, L.A; G.F. Barkle; J.C. Hadfield; M. Vojvodic-Vukovic and C.P. Burgess. 2004. Hydraulic constraints on the performance of a groundwater denitrification wall for nitrate removal from shallow groundwater. *Journal of Contamination Hydrology*. 69: 263 – 279.
- Schipper, L.A; G.F. Barkle and M. Vojvodic-Vukovic. 2005. Maximum rates of nitrate removal in a denitrification wall. *Journal of Environmental Quality*. 34: 1270 – 1276.
- Schipper, L.A; S. Cameron and S. Warneke. 2010. Nitrate removal from three different effluents using large-scale denitrification. *Ecological Engineering*. 36: 1552 – 1557.
- Schipper, L.A; W.D. Robertson; A.J. Gold; D.B. Jaynes and S.C. Cameron, S.C. 2010. Denitrifying bioreactors – an approach for reducing nitrate loads to receiving waters. *Ecological Engineering*. 35: 1532 – 1543.

Schipper, L.A and M. Vojvodić-Vuković. 2001. Five years of nitrate removal, denitrification and carbon dynamics in a denitrification wall. *Water Research*. 35: 3473 – 3477.

Schmidt, C.A; M.W. Clark. 2012. Evaluation of a Denitrification Wall to Reduce Surface Water Nitrogen Loads. *Journal of Environmental Quality*. 41: 724 – 731.

Schultz, R. 2004. Field studies on exposure, effects and risk mitigation of aquatic nonpoint-source insecticide pollution: a review. *Journal of Environmental Quality*. 33: 419 – 448.

Seitzinger, S; J.A. Harrison J.K. Bohlke; A.F. Bouwman; R. Lowrance; B. Peterson; C, Tobias and G. Van Drecht. 2006. Denitrification across landscapes and waterscapes: a synthesis. *Ecological Application*. 16: 2064 – 2090.

Sepúlveda, A; E. González y C. Inostroza. 2011. Remediación de la Contaminación por Nitratos en el Suelo: Antecedentes generales y pertinencia en zona sur de Chile. *Gestión Ambiental (Valdivia)*. 21: 13 - 32.

Sims, J.T; B.L. Vasilas; K.L. Gartley; B. Milliken and V. Green. 1995. Evaluation of soil and plant nitrogen tests for maize on manured soils of the Atlantic Coastal Plain. *Agronomic Journal*. 87: 213 – 222.

Strock, J.S; P.M. Porter and M.P. Russelle. 2004. Cover cropping to reduce nitrate loss through subsurface drainage in the northern US Corn Belt. *Journal of Environmental Quality*. 33: 1010 – 1016.

Tang, J.L; S. McDonald; X.H. Peng; S.R. Samadder; T.M. Murphy and N.M. Holden. 2011. Modelling Cryptosporidium oocysts transport in small ungauged agricultural catchments. *Water Research*. 45: 3665 – 3680.

Tapia, F. y A. Villavicencio. 2007. Uso de biofiltros para mejorar la calidad de agua de riego. Proyecto FONSA: Evaluación de biofiltros para reducir la contaminación difusa en aguas de riego de las regiones VI y VII. (Bol. Téc. N° 170), Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) Santiago, Chile. 128 p.

Thorup-Kristensen, K; J. Magic. and L.S Jensen. 2003. Cover crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones *Adv. Agronomic Journal*. 79: 227 – 302.

USDA. 2013. [En línea]. Natural Resources Conservation services. Cover Crop Termination Guidelines Non-Irrigated Cropland [http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/stelprdb1167871.pdf] Revisado: 6 Mayo de 2015.

USEPA. 2014. [En línea] Water: Drinking Water Contaminants. Inorganic Chemicals [<http://water.epa.gov/drink/contaminants/#one>] Revisado: 3 Mayo de 2015.

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 p.

Van Driel, P.W; W.D. Robertson and L.C. Merkley. 2006a. Denitrification of agricultural drainage using wood-based reactors. *American Society of Association Executives*. 49: 565 – 573.

Van Driel, P.W; W.D. Robertson, W.D and L.C. Merkley. 2006b. Upflow reactors for riparian zone denitrification. *Journal of Environmental Quality*. 35: 412 – 420.

Vitousek, P.M; J. Aber; R.W. Howarth; G.E. Likens; P.A. Matson; D.W. Schindler; W.H. Schlesinger and G.D. Tilman. 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: causes and consequences. *Ecological Application*. 7: 737 - 750.

Vogan, J.L. 1993. The use of Emplaced Denitrifying Layers to Promote Nitrate Removal from Septic Effluent. M.Sc. Thesis. Dept Earth Sci., University of Waterloo, Waterloo, ON, Canada.

Vymazal, J; M. Greenway; K. Tonderski; H. Brix and U. Mander. 2006. Constructed wetlands for wastewater treatment J.T.A. Verhoeven, B. Beltman, R. Bobbink, D.F. Whigham (Eds.), *Wetlands and Natural Resource Management*. 96 p.

Weyer, P. 2001. Nitrate in drinking water and human health. Center for Health Effects of Environmental Contamination. The University of Iowa. USA

WHO. 2003. [En línea]. Nitrate and nitrite in Drinking-water. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75380/1/WHO_SDE_WSH_04.03_56_eng.pdf?ua=1] Revisado: 3 Mayo de 2015.

Xu, Z; L. Shao; H. Yin; H. Chu and H. Yao. 2009. Biological denitrification using corncobs as a carbon source and biofilm carrier. *Water Environmental Research*. 81: 242 – 247.

Yimin, S. and N. Mehdi. 2012. Evaluation of sulfur-based autotrophic denitrification and denitritation for biological removal of nitrate and nitrite from contaminated waters. *Bioresource Technology*. 114: 207 – 216.

Zhang, X; X. Liu; Y. Luo and M. Zhang. 2008. Evaluation of water quality in an agricultural watershed as affected by almond pest management practices. *Water Research*. 42: 3685 – 3696.

CAPÍTULO II. DISEÑO DE UN BIOREACTOR CON RECARGA CONTINUA USANDO RESTOS VEGETALES EN UN CANAL DE DESAGÜE

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue diseñar un bioreactor con recarga continua, comparando velocidades de flujo y tiempos de retención hidráulicos de dos diseños de bioreactores (I y II). El sitio experimental se encuentra ubicado en la Comuna de Pichidegua, Región del Libertador Bernardo O'Higgins, en un canal de desagüe (Lat. 34° 25' 46" S, Long. 71° 21' 54" W). Durante el estudio se monitorearon variables de velocidad de flujo (V_f), Caudal (Q), porosidad (ρ), volumen de flujo activo (V_{fa}) y tiempos de retención hidráulicos (TRH). El diseño de los bioreactores consideró las velocidades de flujo y el nivel de depositación de sedimentos. El bioreactor I constaba con dos tubos de PVC de entrada y salida de mismo diámetro, mientras que el bioreactor II tenía diámetros inferiores en la salida, de forma que el caudal que pasara a través de este fuese menor que en el bioreactor I. Dado que el bioreactor II presentó TRH mayores que el bioreactor I (en un 65%) fue seleccionado para realizar un estudio de remoción de cargas de nitrógeno posteriormente a este trabajo.

Palabras Clave: tiempo de retención hidráulico, velocidad de flujo, volumen de flujo activo.

ABSTRACT

The main aim of this study was to design a bioreactor with continuous recharge, contrasting (comparing) flow velocity and hydraulic retention time of two bioreactor designs. The experimental area was located in the commune of Pichidegua, Region of Libertador Bernardo O'Higgins, in an outflow channel ($34^{\circ} 25' 46''$ SL, $71^{\circ} 21' 54''$ WL). During the study period, flow velocity (V_f), discharge (Q), porosity (p), active flow volumen (vfa) and finally hydraulic retention time (TRH) variables were monitored. The bioreactors design consider the flow velocity and sediment deposition level. The bioreactor I had two input and output PVC tubes of the same diameter, whereas the bioreactor II had a smaller output diameter and the flow passing through this was lower than the bioreactor I. Since the bioreactor II showed higher TRH than the bioreactor I (65%), it was selected for carry out a nitrogen loads removal study later to this work.

Keywords: hydraulic retention time, flow velocity, active volume flow

INTRODUCCIÓN

Los bioreactores a base de material vegetal han sido utilizados en las últimas dos décadas, para reducir las concentraciones de nitrato (NO_3^-) en cuerpos de aguas (Blowes *et al.*, 1994; Greenan *et al.*, 2006; van Driel *et al.*, 2006; Wildman, 2002). Se han planteado distintos tipos de bioreactores, los cuales, fueron nombrados en el capítulo anterior. Así, el uso de bioreactores, junto con otras prácticas de conservación, deben ser parte de una de las medidas de mitigación a utilizar para evitar la degradación de la calidad del agua (Christianson, 2011; Robertson y Merkley, 2009; Woli *et al.*, 2010).

Actualmente los bioreactores se podrían diseñar para tratar el agua de drenaje proveniente de zonas cultivadas en campos de tamaño pequeño hasta medio (< 30 ha), utilizando estructuras de control para desviar y retener el agua, proporcionando una capacidad de flujo permanente y así evitar la obstrucción de sistemas de drenaje durante los eventos de mayor flujo (Christianson, 2011).

La aplicación de bioreactores, donde la desnitrificación es el proceso principal que permite reducir las cargas de N de un cuerpo de agua, requiere una comprensión detallada de la hidrología de la zona en estudio, junto con la variabilidad espacial y temporal de las concentraciones de NO_3^- en el sitio (Robertson y Cherry, 1995). Así, los métodos de diseño optimizados para bioreactores son esenciales para una remoción eficiente de NO_3^- .

Uno de los grandes retos de los bioreactores es la alta variabilidad de los caudales de drenaje a lo largo del año (Van Driel *et al.*, 2006; Woli *et al.*, 2010), dando lugar a la fluctuación de los tiempos de retención hidráulicos (TRH) del agua en el bioreactor. Junto con esto, las velocidades de flujo (V_f) en el bioreactor, combinadas con factores como el volumen de flujo activo del bioreactor (V_{fa}), establecen el TRH en el reactor, donde TRH muy bajos pueden ser insuficientes para reducir la cantidad de oxígeno disuelto (OD), a tal nivel que no pueda producirse el proceso de desnitrificación en el agua. Por el contrario, TRH muy altos proporcionarían una excelente eliminación de NO_3^- , pero también el potencial de reducción de procesos indeseables como la reducción del sulfato (Blowes *et al.*, 1994; Robertson y Merkley, 2009; Van Driel *et al.*, 2006). Chun *et al.* (2009) informaron que la reducción de NO_3^- entre 10 – 40% se produce con TRH generalmente menores a 5 horas, mientras que con tiempos mayores a 15 horas esta disminución puede ser del 100%. Greenan *et al.* (2009), corroboraron lo anterior, con tiempos de retención que van desde 2,1 - 9,8 días, resultando eficientes en la remoción, entre un 30 - 100%, respectivamente.

Teniendo en cuenta altas tasas de flujo en un bioreactor, las V_f es uno de los parámetros físicos más importantes (Robertson *et al.*, 2005a; Schipper *et al.*, 2004; Van Driel *et al.*, 2006b). A medida que pasa el tiempo, las V_f pueden disminuir, debido a la consolidación del material orgánico (Chun *et al.*, 2009; Robertson y Merkley, 2009); de esta forma los bioreactores que contienen partículas más grandes pueden experimentar reducciones relativamente mayores en la V_f , en comparación con bioreactores con partículas más pequeñas (Cameron y Schipper, 2010), reduciendo su capacidad desnitrificante.

Actualmente no se han probado bioreactores que sean instalados directamente en un canal de desagüe, alternativa que podría ayudar a disminuir la carga de N en dichos cuerpos de agua superficiales; además podría reducir parte del rastrojo que muchas veces se ve en exceso en distintos predios y a maximizar el uso del suelo, ya que alternativas de conservación necesitan parte del terreno cultivable de agricultores.

A nivel nacional no existen estudios sobre bioreactores, por lo que es de gran importancia llevar a cabo un estudio piloto, que permita comprender una estructura básica de bioreactor y que se adecue a un canal de desagüe, y que además se puedan hacer análisis de manera fácil y confiable.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Diseñar un bioreactor con recarga continua para un canal de desagüe, usando restos vegetales de bajo costo, y que tenga un flujo de agua constante, para no limitar los factores de reducción de las cargas de NO_3^- .

Objetivo específico

- Comparar las velocidades de flujo y el tiempo de retención hidráulico de dos bioreactores con recarga continua.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio

El estudio se realizó en un canal de desagüe, ubicado en el sector norte del valle central de Chile, perteneciente a la comuna de Pichidegua, Provincia de Cachapoal, Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, entre los meses de Marzo - Septiembre de 2013. El sitio de estudio se ubicó en la localidad de El Caleuche (Lat. 34 ° 25' 46" S, Long. 71 ° 21' 54" W, altitud 124 m).

Características de diseño de bioreactor I

El bioreactor I, correspondió a un cilindro de policloruro de vinilo (PVC) de 20 cm de diámetro, con una altura de 30 cm y una tapa plástica en la parte superior para evitar la pérdida de material y la salida de agua, generando un ambiente anaeróbico. El bioreactor constó de dos aberturas para la entrada y salida de agua, con una diferencia de altura de 5 cm entre ellas. A las ya señaladas aberturas, se unieron los respectivos tubos de PVC de 45 cm de largo (cada uno con una válvula para retirar muestras de agua mediante jeringas) para la entrada y salida de agua, que tenían un diámetro de 4 cm. Además el orificio de entrada y salida tenía un filtro de malla plástica de 0,2 cm para evitar pérdidas y entrada de material vegetal al interior del bioreactor (Figura 1).

El cilindro de PVC de 20 cm de diámetro, se dejó expuesto en su parte basal y fue enterrado 10 cm al interior del canal de desagüe del campo y se rellenaron los 20 cm restantes con 0,9 kg de material vegetal triturado a 5 mm.

Los bioreactores fueron sometidos a una recarga continua de agua, indicando que están en todo momento bajo una lámina de agua, de tal forma de generar un ambiente anaeróbico dentro de ellos.

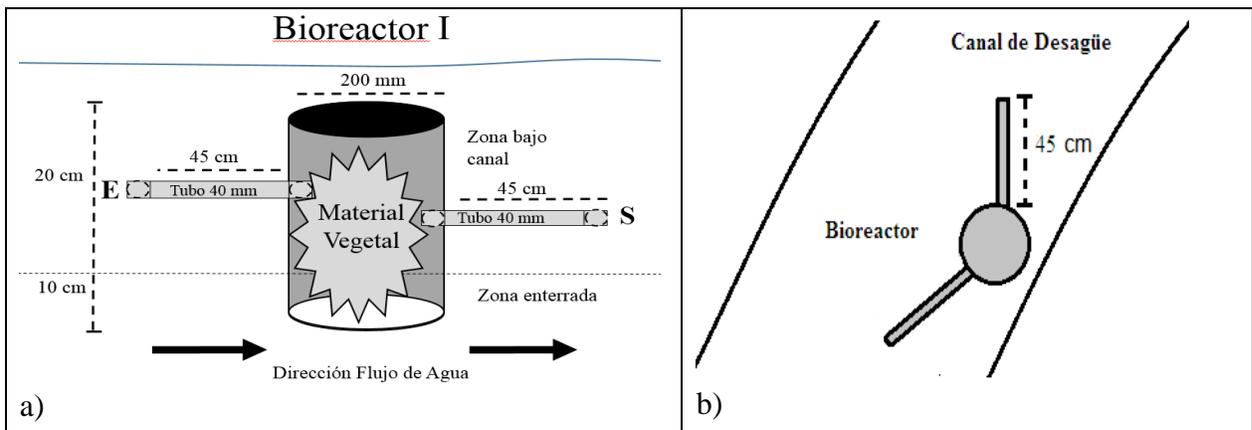


Figura 1. a) Bioreactor I usado en el canal de desagüe. Vista en perfil del bioreactor I con los diámetros y largos de tubos, junto con la dirección del flujo de agua. E: Entrada de agua; S: Salida de agua. b) Vista en planta de bioreactor I en el canal de desagüe.

Variables a evaluar en los bioreactores

En un mes de pruebas de campo para el diseño de un bioreactor se determinaron las variables velocidad de flujo (V_f), el caudal de cada bioreactor (Q_b), volumen de flujo activo del material (V_{fa}), porosidad del material (ρ) y tiempo de retención hidráulica (TRH), las cuales se utilizarán como criterio de elección del bioreactor.

Velocidad de flujo (V_f)

Una forma teórica utilizada para determinar la V_f es mediante la ecuación de Manning:

$$V_f = R^{2/3} * S^{1/2} * n^{-1} \quad \text{Ec. 1}$$

Donde V_f = velocidad de la sección transversal ($m\ h^{-1}$); n = coeficiente de rugosidad de Manning (0,015 - PVC); R = radio hidráulico calculado (dividiendo la sección transversal del tubo por la circunferencia (m) y S = pendiente del tubo de PVC (m/m) (Maidment, 1993). En campo se determinó utilizando un colorante natural (azul brillante), midiendo el tiempo que demoraba en entrar y salir el agua en el bioreactor. Además se calculó el largo del bioreactor (1,1 m). Finalmente se determina la V_f ($m\ h^{-1}$). Las mediciones se realizaron cada una semana en los bioreactores instalados en el canal.

Caudal (Q_b)

Determinada la V_f , ésta es multiplicada por el área promedio de los diámetros de los tubos de PVC, determinando el flujo de salida del bioreactor, obteniendo el Q_b . Esto es corroborado por la ecuación de Darcy (1856):

$$Q_b = V * i * A \quad \text{Ec. 2}$$

Donde Q_b = caudal del bioreactor ($m^3\ h^{-1}$), V = velocidad sección transversal ($m\ h^{-1}$), A = área de la sección transversal (m^2), i = diferencia de altura entre la entrada y salida.

Volumen de flujo activo (V_{fa})

El V_{fa} , es definido como el volumen de material orgánico que está en contacto con el agua dentro del bioreactor (Christianson *et al.*, 2010). En el bioreactor I el V_{fa} , fue de $0,0035\ m^3$, con un peso total aproximado para todos los materiales utilizados de 0,9 kg.

Porosidad (ρ)

La ρ es la relación entre el espacio de poros y el volumen total ocupado por el material (Ima y Mann, 2007). Esta propiedad se determinó de forma teórica en el estudio. Estudios realizados por diversos autores determinaron que la ρ oscila entre los 0,6 y 0,86 para medios de astillas de madera con tamaños de 11 mm (Christianson *et al.*, 2010; Chun *et al.*, 2009; Ima y Mann, 2007; Robertson, 2010), mientras que otros autores determinaron valores entre los 0,65 y 0,79 (Chun *et al.*, 2010; Van Driel *et al.*, 2006; Woli *et al.*, 2010). Así el aumento de contenido de humedad y la densidad podrían disminuir la porosidad de astillas (Christianson *et al.*, 2010, (Ima y Mann, 2007). Para este estudio se utilizó una ρ de 0,7, valor promedio de los resultados presentados anteriormente, teniendo en cuenta que los materiales utilizados en este estudio tenían un tamaño similar a los anteriores (5 mm).

Tiempo de retención hidráulico (TRH)

El TRH es la relación entre la ρ , Vfa y el Qb, el cual es un parámetro de rendimiento que combina factores de diseño controlables con elementos ambientales incontrolables en el bioreactor y el cual se ha utilizado en diversos estudios sobre diseños de bioreactores (Ima y Mann, 2007; Christianson *et al.*, 2013; Chun *et al.*, 2009). El TRH teórico se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\text{TRH} = \rho * \text{Vfa} * \text{Qb}^{-1} \quad \text{Ec. 3}$$

Donde Vfa =Volumen de flujo activo (m^3); ρ = Porosidad del material orgánico (%) y Qb = Caudal del bioreactor ($\text{m}^3 \text{h}^{-1}$).

Variables a evaluar en canal de desagüe

Al igual que en los bioreactores, se determinó la Vf y el caudal del canal (Qc) utilizando el método del colorante natural azul brillante. Se trazó una distancia de 10 m en el canal para determinar el tiempo en que demoraba en llegar el colorante de un punto al otro, determinando la velocidad de flujo de este. Además se determinó el área de flujo del canal para poder obtener el Qc en cada fecha de medición.

Diseño experimental y análisis estadístico

La unidad experimental correspondió al bioreactor compuesto por la estructura plástica de 20 cm de diámetro y 30 cm de alto. Se establecieron cuatro tratamientos con tres repeticiones, donde las variables a evaluar fueron el tipo de material orgánico y la posición dentro del canal de desagüe.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos del ensayo de campo.

Tratamiento	Material orgánico
T0	Ninguno
T1	Restos de cosecha maíz
T2	Restos de poda
T3	Viruta de pino

Los resultados para el ensayo de campo fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) con prueba estadística DGC $p < 0,05$ de acuerdo a un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones, analizados con el programa estadístico Infostat (2013). Los bloques correspondieron a las distintas posiciones dentro del canal de desagüe.

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Variables a evaluar en bioreactor I

En el Cuadro 2, se presentan los resultados de V_f , Q_b , ρ y TRH, en las tres semanas de mediciones. Los resultados indican que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en las distintas fechas de medición del TRH en los bioreactores. El TRH fue aumentando a medida que pasaron las fechas de medición, con un promedio de un 15% desde la primera hasta la última fecha de medición.

Cuadro 2. Resultados de variables evaluadas en bioreactor I.

Fechas de Medición	Variables ^{1,2}			
	V_f	Q_b	ρ	TRH
	---- m s ⁻¹ ----	---- m ³ h ⁻¹ ----	-	---- h----
12-03-2013	0,031	0,14a		0,018 c
19-03-2013	0,028	0,13a	0,7	0,020 b
26-03-2013	0,026	0,12a		0,021 a

¹ V_f = velocidad de flujo; Q_b = Caudal bioreactor ρ = porosidad; TRH = Tiempo de retención hidráulico.

² Letras distintas en una columna indican diferencias significativas entre las distintas fechas de medición, según prueba DGC ($p < 0,05$, ANDEVA).

Dado estos resultados y al no haber relación con el tipo de material vegetal utilizado en el ensayo, se puede inferir que el causante del aumento de TRH en las fechas estudiadas con respecto a la primera fecha, fue la sedimentación. Al no tener una barrera a la entrada de los bioreactores, las partículas finas que son transportadas a lo largo del canal fueron tapando los tubos de PVC de entrada, lo que se traduce en una disminución de la V_f , y posteriormente un aumento del TRH.

Estudios indican que bajos valores de TRH podrían desfavorecer el proceso de desnitrificación al no ser suficiente para reducir la cantidad de OD en el efluente. Mientras que por otro lado, altos valores de TRH generan una remoción prácticamente completa del NO_3^- , aumentando a la vez la posibilidad de generar condiciones inadecuadas como la producción de sulfato (SO_4^{2-}), óxido nitroso (N_2O) y metilación de mercurio (Blowes *et al.*, 1994; Robertson y Cherry, 1995; Robertson y Merkley, 2009; Van Driel *et al.*, 2006; Hudson y Cooke, 2011).

Hoover (2012), presentó un estudio en el cual se estudiaron cuatro tipos de bioreactores en condiciones controladas utilizando aserrín, determinando que a mayor tiempo de retención, la eliminación de NO_3^- es más alta, así, con TRH de 2 h se eliminó un 7% de NO_3^- y con tiempos de 18 h, alcanzaba hasta un 100 %, con la desventaja de que a tiempos muy altos, la carga de NO_3^- se ve disminuida. Chun *et al.* (2011), utilizando columnas de laboratorio, obtuvo reducciones de hasta un 40% la concentración de NO_3^- , con un tiempo de retención de 2,6 h. Por otro lado, Woli *et al.* (2010), en un bioreactor en terreno, con TRH de 26 min, reportaron una reducción de un 50% en la carga de NO_3^- , mientras que en condiciones similares se logró remover un 30% en

tiempos de 2,1 días (Greenan *et al.* 2009). Dado los resultados presentados anteriormente se optó por desarrollar un segundo modelo de bioreactor, el cual debía tener algún tipo de amortiguador para disminuir la sedimentación en los tubos de PVC y aumentar el TRH.

Bioreactor II

El diseño del bioreactor II correspondió a tres cilindros de PVC. El tubo central en el que se instaló cada residuo vegetal, tiene 20 cm de diámetro, con una altura de 30 cm y una tapa plástica en la parte superior para evitar la pérdida de material y salida del agua, proporcionando un ambiente anaeróbico a los sustratos, junto con dos tubos de 11 cm de diámetro y 30 cm de altura, encargados de la entrada y salida de agua del bioreactor. Para la unión entre estos tubos, se seleccionaron distintos diámetros de tubos conectores (4,0cm, 3,2 cm y 2,0cm) para disminuir la V, con una diferencia de altura de 5,0 cm entre ellas. Los tubos de entrada y salida contenían una jeringa de extracción de agua para hacer posible el muestreo, además de un filtro de malla de 2 mm para evitar la entrada o pérdidas de material.

El cilindro de mayor diámetro, junto con el de entrada se mantuvo abierto en su parte basal y fueron enterrados a 10 cm al interior del canal de desagüe, así las comunidades de microorganismos que habitan los sedimentos pueden colonizar el sustrato orgánico y remover el N a través de los procesos de inmovilización y desnitrificación. Mientras que el cilindro de salida se mantuvo cerrado, teniendo la función de captar el agua con menor contenido de N. Los 20 cm del tubo más grueso se rellenó con restos de madera (triturado a 5 mm), el cual tenía un peso de 0,7 kg y un V_{fa} de $0,0027 \text{ m}^3$. Finalmente se unieron láminas de depósito de sedimentos al tubo de entrada y al tubo receptor de material vegetal, de esta forma los tubos conexión de entrada y salida no acumularon sedimentos en su interior a diferencia del bioreactor I.

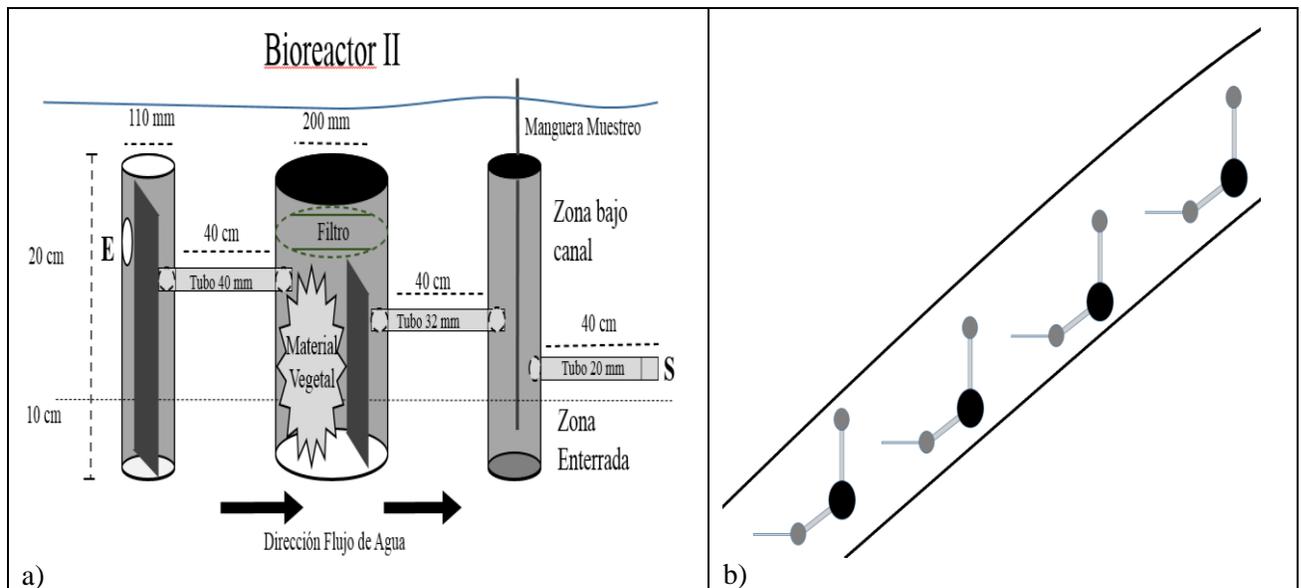


Figura 2. a) Bioreactor II usado en el canal de desagüe. Vista en perfil del bioreactor con los distintos diámetros y largos de tubos, junto con la dirección del flujo de agua. E: Entrada de agua, S: Salida de agua. b) Vista en planta de bioreactores en el canal de desagüe.

Variables a evaluar en bioreactor II

De la misma forma que se hizo con el primer bioreactor, se evaluarán el TRH, Vf y Qb. En el Cuadro 3 se presentan los resultados obtenidos para el bioreactor II, encontrándose que para TRH en las cuatro fechas de medición no se alcanzaron diferencias significativas ($p > 0,05$).

Cuadro 3. Resultados de variables evaluadas en bioreactor II.

Fechas de Medición	Variables ^{1,2}			
	Vf	Qb	ρ	TRH
	---- m s ⁻¹ ----	---- m ³ h ⁻¹ ----	-	---- h ----
05-06-2013	0,0128	0,033		0,057 a
12-06-2013	0,01282	0,033	0,7	0,057 a
19-06-2013	0,01277	0,033		0,057 a
26-06-2013	0,01258	0,032		0,058 a

¹ Vf = velocidad de flujo; Qb = Caudal bioreactor ρ = porosidad; TRH = Tiempo de retención hidráulico

² Letras distintas en una columna indican diferencias significativas entre las distintas fechas de medición, según prueba DGC ($p < 0,05$, ANDEVA).

En los meses de ensayo se observó que la sedimentación dentro de ambos bioreactores era un factor limitante a la hora de establecerlos en el canal, ya que a medida que pasaba el tiempo los sedimentos utilizaban parte de los tubos de PVC que conectaban la entrada y salida de agua, alterando el factor de rugosidad y éste la velocidad de flujo de los bioreactores. El bioreactor II al presentar un tubo de entrada con láminas de sedimentación no presentó problemas por lo que su mantención fue inferior en comparación al bioreactor I. Además al ir disminuyendo el diámetro de sus tubos, aumentó su TRH en un 65% en comparación al bioreactor I, mientras que la Vf y el Qb disminuyeron drásticamente, lo cual era esperado.

CONCLUSIÓN

Los resultados indican que al comparar los tiempos de retención hidráulicos y las velocidades de flujos, el diseño de bioreactor I presentó valores inferiores que el diseño de bioreactor II en ambos parámetros.

El tiempo de retención hidráulico fue menor para el bioreactor I, en comparación al bioreactor II, y es un factor clave a la hora de elegir uno de ellos, ya que al aumentar esta propiedad, podría ser mayor la remoción de NO_3^- .

El diseño de bioreactor II, presentó la capacidad de no acumular alta cantidad de sedimentos en sus tubos, lo que facilitó su correcto funcionamiento, y en consecuencia la elección de este bioreactor para un siguiente estudio.

LITERATURA CITADA

Blowes, D.W; W.D. Robertson; C.J Ptacek and C. Merkley. 1994. Removal of agricultural nitrate from tile-drainage effluent water using in-line bioreactors. *Journal of Contaminant Hydrology*.15: 207 – 221.

Chun, J.A; R.A. Cooke; J.W. Eheart, and M.S. Kang. 2009. Estimation of flow and transport parameters for woodchip-based bioreactors: I. laboratory-scale bioreactor. *Biosystems Engineering*. 104: 384 - 395.

Chun, J.A; R.A. Cooke; J.W. Eheart, and J. Cho. 2010. Estimation of flow and transport parameters for woodchip-based bioreactors: II. Field - scale bioreactor. *Biosystems Engineering*. 105: 95 - 102.

Christianson, L. E. 2011. Design and performance of denitrification bioreactors for agricultural drainage. M. S. thesis, *Iowa State University*.

Greenan, C.M; T.B. Moorman; T.C. Kaspar; T.B. Parkin and D.B. Jaynes. 2006. Comparing carbon substrates for denitrification of subsurface drainage water. *Journal of Environmental Quality*. 35: 824 – 829.

Hoover, N.L 2012 Denitrification woodchip bioreactor two-phase column study: Evaluation of nitrate removal at various hydraulic retention times and effect of temperature on denitrification rates. M. S. thesis, *Iowa State University*.

Hudson, R.J. and R.A. Cooke. 2011. (Total and) Methyl Mercury Export from Denitrifying Bioreactors in Tile-Drained Fields of Central Illinois. Available at: <http://www.istc.illinois.edu/research/092910symposium/1045.pdf>.

Ima, C.S and D.D. Mann. 2007. Physical Properties of Woodchip: Compost Mixtures used as Biofilter Media. CIGR (Commission Internationale du Genie Rural) Ejournal. 9: 1- 7

Robertson, W.D and J.A. Cherry. 1995. In situ denitrification of septic-system nitrate using reactive porous media barriers: field trials. *Ground Water*. 33: 99 - 111.

Robertson, W.D and L.C. Merkley. 2009. In-stream bioreactor for agricultural nitrate treatment. *Journal Environmental Quality*. 38: 230 – 237.

Schipper, L.A; G.F. Barkle; J.C. Hadfield; M. Vojvodic-Vukovic and C.P. Burgess. 2004. Hydraulic constraints on the performance of a groundwater denitrification wall for nitrate removal from shallow groundwater. *Journal of Contaminant Hydrology*. 69: 263 - 279.

Van Driel, P.W; W.D. Robertson and L.C. Merkley; 2006. Denitrification of agricultural drainage using wood-based reactors. *American Society of Agricultural Engineers*. 48: 121 – 128.

Wildman, T.A. 2001. Design of field-scale bioreactors for bioremediation of nitrate in tile drainage effluent. M. S. thesis, University of Illinois at Urbana-Champaign.

Woli, K.P; M.B. David; R.A. Cooke; G.F. McIsaac, and C.A. Mitchell. 2010. Nitrogen balance in and export from agricultural fields associated with controlled drainage systems and denitrifying bioreactors. *Ecological Engineering*. 36: 1558 - 1566.

APÉNDICE

A1. Variables medidas en el canal de desagüe

	Variables ¹				
	<i>Lc</i>	<i>Pc</i>	<i>Ac</i>	<i>Áf</i>	<i>Vf</i>
	-- m --	-- m --	-- m --	-- m ² --	---- m s ⁻¹ ----
Entrada		0,25	1,3	0,325	
Centro	200	0,27	1,5	0,405	0,2
Salida		0,4	2,3	0,92	

¹ *Pc* = Profundidad canal; *Lc* = Longitud canal; *Ac* = ancho canal; *Áf* = área flujo; *Vf* = Velocidad de flujo

CAPÍTULO III: EVALUACIÓN DE UN BIOREACTOR PARA LA RETENCIÓN DE FORMAS NITROGENADAS EN UN CANAL DE DESAGÜE EN UNA MICROCUENCA CON CULTIVO DE MAÍZ GRANO (*Zea mays* L.)

RESUMEN

En este estudio se evaluó un bioreactor con recarga continua usando restos vegetales para reducir las cargas de nitrógeno (N), en un canal de desagüe de una microcuenca con cultivo de maíz grano. Se evaluaron cuatro tratamientos en los bioreactores, los cuales incluían rastrojo de maíz, restos de poda de vid, aserrín de pino y un control sin material vegetal; con tres repeticiones cada uno, en un diseño de bloques completamente al azar, distribuidos en entrada – centro – salida, en el canal de desagüe. El ensayo se estableció en la Comuna de Pichidegua, Región del Libertador Bernardo O'Higgins, en un canal de desagüe colindante a campos con monocultivo de maíz (*Zea mays* L.), los cuales presentaban suelos con texturas arcillosas y una estrata impermeable (Lat. 34° 25' 46" S, Long. 71° 21' 54" W). Durante el periodo de estudio se monitorearon concentraciones de nitrógeno - nitrato (N-NO₃), junto con distintos parámetros de calidad de agua. Se observó que los bioreactores tienen una capacidad de reducción promedio de 50% de las concentraciones de N-NO₃, donde los tratamientos con material vegetal presentaron diferencias estadísticas significativas con respecto al control, pero no entre ellos ($p < 0,05$), lo que indica que los bioreactores con sustrato son capaces de reducir N-NO₃ con una alta relación carbono nitrógeno ($C/N > 30$). Aunque se demostró que los bioreactores son efectivos para reducir cargas de N, para disminuir la carga de N en el canal de desagüe del ensayo se necesitarían bioreactores de mayor tamaño.

Palabras clave: cargas de nitrógeno, nitrógeno-nitrato, bioreactores

ABSTRACT

In this study, a bioreactor with continuous recharge was assessed using plant residues to reduce nitrogen (N) loads in an outflow channel of a micro-basin with grain maize fields. Four treatments were evaluated in bioreactors, which included maize stove, vine prunings, pine sawdust and a control without plant material; with four replications each in a randomized complete block design, distributed inlet - Middle - outlet in the outflow channel. The assay was set in the commune of Pichidegua, Region del Libertador Bernardo O'Higgins, in an open drainage channel adjacent to monoculture maize (*Zea mays L.*) fields, which had clay soil textures and an impermeable strata (Lat. 34 ° 25 '46' 'S, Long. 71 ° 21' 54 " W). During the study period, concentrations of nitrate-nitrogen (NO₃-N) were monitored, along with various water quality parameters. It was observed that bioreactors have a mean reduction capacity of 50% of N-NO₃ concentrations, where treatments with plant material presented statistically significant differences compared with control, but not between them ($p < 0,05$), which suggests that bioreactors are able to reduce NO₃-N with high carbon to nitrogen (C/ N > 30) substrates. Although it was demonstrated that bioreactors are effective in reducing N loads, to reduce the N loads in the channel it is suggested to increase the bioreactor capacity.

Keywords: nitrogen loads, nitrogen-nitrate, bioreactors.

INTRODUCCIÓN

El ciclo global del nitrógeno (N) es fundamental para la biogeoquímica de la Tierra, con grandes flujos naturales de N desde ecosistemas terrestres y marinos a través de la fijación biológica de N. El N fijado se transforma posteriormente en una amplia gama de aminoácidos y es degradado por microorganismos, regresando a la atmósfera en forma de N molecular a través del proceso de desnitrificación microbiana en los suelos, las aguas dulces y marinas (Galloway *et al.*, 2004).

El exceso de N en particular, genera impactos negativos en el ambiente con efectos tan variados como: el aumento de la acidificación del suelo, aumento de las emisiones de gases de efecto invernadero como óxido nitroso (N_2O) y disminución de la calidad del agua, específicamente nitrato (NO_3^-), generando efectos tóxicos sobre la biota de agua dulce. Junto con el fósforo, el N es uno de los elementos más importantes que causan la eutrofización de aguas superficiales y subsuperficiales (Fenn *et al.*, 1998). Por otra parte, excesos de N pueden contaminar cuerpos de agua utilizados para consumo humano, donde altas concentraciones causarían enfermedades como el síndrome del niño azul en lactantes, la que estaría atribuida a la reducción de (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-), asociado a la oxidación de la hemoglobina normal hacia metahemoglobina, la cual, es incapaz de transportar oxígeno a los tejidos; como también cáncer gástrico en adultos (OMS, 2007).

Respecto al NO_3^- , se ha estudiado que de forma natural, a través de procesos de amonificación y nitrificación, se producen distintas formas nitrogenadas como amonio (NH_4^+) y NO_3^- , de las cuales el NO_3^- es más susceptible a la movilización hacia cuerpos de agua, principalmente debido a su carga negativa y solubilidad en agua (Havlin *et al.*, 2013). También su origen en el suelo se debe a la contaminación atmosférica y a la directa aplicación al suelo de fertilizantes nitrogenados de origen orgánico y mineral. Así, una saturación de NO_3^- en el suelo superficial, asociado a procesos de percolación de agua, puede generar un movimiento vertical de este soluto más allá de la zona radicular, generándose una pérdida elevada de éste, vía lixiviación hacia aguas subterráneas. Además, en suelos en donde se han incorporado fertilizantes nitrogenados, entre el 80 y el 90% del N lixiviado corresponde a NO_3^- (EPA 2005; Luo *et al.*, 2000).

En Chile, el nivel de NO_3^- máximo permitido en aguas para consumo humano es de 50 mg $\text{NO}_3^- \text{L}^{-1}$ (INN, 2005), alrededor de unos 10 mg N- $\text{NO}_3^- \text{L}^{-1}$ de nitrógeno-nitrato (N- NO_3^-), umbral similar al usado también en otros países como EE.UU (USEPA, 1992) y la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1980).

La contaminación difusa de agua por N- NO_3^- es uno de los factores causantes de la degradación de los recursos hídricos, de esta forma, en determinadas cuencas hidrográficas, el aporte difuso de N representa más del 50% del N total de la cuenca (Machefer y Dise, 2004). 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, donde los suelos agrícolas reciben en promedio dosis de 200 kg N ha^{-1} aproximadamente (Parodi, 2010).

Actualmente en Chile, no se cuenta con estudios suficientes que permitan determinar el impacto ambiental negativo debido al aporte de fertilizantes a los suelos agrícolas (Cancino *et al.*, 1997;

Goecke, 2006), y más aún, estudios que incluyan un monitoreo continuo para evaluar el impacto de las actividades agrícolas en los niveles de N-NO₃ en los cuerpos de agua, particularmente en cultivos que reciben altas dosis de fertilizantes nitrogenados en la zona central de Chile (Salazar y Nájera, 2011).

Uno de los pocos estudios realizados con monitoreo continuo en Chile fue realizado por Golembesky (2004), que incluyó un periodo de 13 meses, encontrándose que los niveles de N-NO₃ en pozos de agua cercanos a zonas agrícolas en la Región de O'Higgins, eran generalmente mayores que el límite establecido para consumo humano en Chile.

Estudios en la zona sur de Chile afirman que el uso del agua en las actividades agrícolas y forestales ha aumentado significativamente la contaminación por N-NO₃ y fosfatos (PO₄³⁻) en los ríos y lagos, lo que contribuye a los procesos de eutrofización (Steffen, 1993). Por su parte, Iriarte (2007), en un estudio realizado en la subcuenca del río Cachapoal bajo, determinó que gran parte de los suelos con uso agrícola poseían una elevada vulnerabilidad a perder N-NO₃ y contaminar napas subterráneas.

En la actualidad existe preocupación en la Región de O'Higgins, ya que en esta zona se realiza un cultivo intensivo de maíz grano, donde fueron sembradas con esta especie 47.748 ha durante la temporada 2013 - 2014 (INE-Chile, 2014), generando un 40% del total producido a nivel nacional (ODEPA-Chile, 2014).

Dentro de los manejos de este cultivo está la aplicación de fertilizantes nitrogenados en dosis superiores a 300 kg N ha⁻¹, que generalmente superan ampliamente la demanda de N del cultivo, generando un riesgo potencial de contaminación difusa de N (ODEPA-Chile, 2010; Salazar y Nájera, 2011). Así, la principal estrategia debiese estar orientada al cálculo de dosis de N en base a un balance que considere el potencial de rendimiento del cultivo de acuerdo a las características edafoclimáticas y de manejo (Havlin *et al.*, 2013). Sin embargo, en cualquier suelo es posible que existan pérdidas naturales de N por lixiviación y pérdidas por escurrimiento superficial o flujo subsuperficial (Armstrong and Burt, 1993; Robertson and Vitousek, 2009). Esto toma mayor importancia, ya que, casi en su totalidad, el maíz en esta Región es regado con un sistema de riego convencional, con eficiencias de aplicación menores al 50% (INIA, 2010). Por lo tanto, es necesario establecer medidas adicionales, que permitan retener formas nitrogenadas, principalmente de N-NO₃.

Las técnicas de biorremediación son una de las medidas utilizadas para reducir las cargas de N de suelos y aguas (Hatzinger *et al.*, 2002; Xu y Lee, 2008). Éstas son medidas o manejos que consisten en el uso de microorganismos (hongos y bacterias) para descomponer o degradar sustancias (Boyer, 2000; Bento *et al.*, 2005). Una vez degradados los contaminantes, la población de microorganismos se reduce al agotarse su fuente de alimentos, no presentando riesgos de contaminación para suelos y aguas (Nealson, 2003).

Un sistema que puede disminuir los niveles de N-NO₃ en cuerpos de agua superficiales son los bioreactores de recarga continua (Fahrner, 2002; Jaynes *et al.*, 2008; Robertson *et al.*, 2008; Schipper *et al.*, 2005;), que consisten en contenedores plásticos ubicados en la superficie o enterrados en el suelo, y que se rellenan con sustratos orgánicos que presenten una relación carbono/ nitrógeno alta (C/ N >30). Los bioreactores pueden contener materiales tales como

virutas de madera, restos de poda y de cosecha, entre otras (Jaynes *et al.*, 2008). La alta relación C/ N, provoca una descomposición más lenta en comparación a otros residuos, donde los microorganismos utilizan el N-NO₃ y NH₄⁺ para su crecimiento mientras descomponen el rastrojo (Havlin *et al.*, 2013). Las comunidades de microorganismos pueden utilizar el N a través del proceso de inmovilización o removerlo mediante la desnitrificación, y en consecuencia reducir su potencial de contaminación (EPA, 2005; Luo *et al.*, 2000). Este último es un proceso biogeoquímico que ocurre naturalmente cuando ciertas bacterias heterótrofas, en ausencia de oxígeno, usan N-NO₃ como aceptor terminal de electrones en sus procesos respiratorios, originándose óxido nítrico (NO) y óxido nitroso (N₂O) (Soares, 2000; Van den Heuvel, 2010), siendo el C la fuente donante de electrones para este tipo de bacterias (Seitzinger *et al.*, 2006). Por otro lado el término recarga continua se refiere a un continuo flujo de agua a través del bioreactor.

La capacidad de desnitrificación la presentan numerosas bacterias presentes en los suelos y ha sido demostrada experimentalmente en representantes del género *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* y *Achromobacter* (Manucharova *et al.*, 2000).

En ensayos realizados con bioreactores por Jaynes *et al.* (2008), durante más de 5 años, se encontró una disminución en la concentración de N-NO₃, utilizando astillas de madera de roble, donde el agua de drenaje subterráneo tenía concentraciones de 8,8 mg N-NO₃ L⁻¹, mientras que en el agua de drenaje sin tratar presentó valores de 22 mg N-NO₃ L⁻¹. Así también Blowes *et al.* (1994) demostraron que las astillas de madera se pueden utilizar como un filtro biológico para el tratamiento de la escorrentía del agua de riego. Kim *et al.* (2003) investigaron que materiales como virutas de madera y paja de trigo podían ser utilizados como sustratos en los bioreactores para la reducción de N-NO₃.

Dentro de las ventajas más importantes de los bioreactores se destacan su simplicidad, bajos requerimientos y bajos costos de mantención por un largo periodo de tiempo, además de tener una amplia capacidad de adaptación en un sistema hidrogeológico (Schipper *et al.*, 2005). Robertson *et al.* (2008) muestran que la eliminación de N-NO₃ puede tener una vida mínima de 15 años, en donde no sería necesario un mantenimiento adicional o suplemento de material carbonado, ya que los chips de madera se degradan con suficiente lentitud en condiciones de anoxia, junto con la posibilidad de diseñar y ajustar a la medida según el manejo necesario. Estos sustratos orgánicos son de fácil acceso para los agricultores, teniendo los bioreactores un gran número de ventajas para su utilización.

HIPÓTESIS

Los bioreactores con recarga continua, utilizando restos de poda de vid, aserrín de pino y rastrojos de maíz, son efectivos en la retención de formas nitrogenadas en un canal de desagüe.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar un bioreactor con recarga continua usando restos vegetales para reducir las cargas de nitrógeno en un canal de desagüe de una microcuenca con cultivo de maíz grano.

Objetivos específicos

- Comparar la eficiencia de restos de poda de vid, aserrín de pino y rastrojos de maíz, en un bioreactor, en condiciones de campo, como sustratos de un bioreactor para retener N-NO₃.
- Monitorear la variación temporal, en el canal de desagüe, los niveles de N-NO₃, pH, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto y demanda química de oxígeno, en relación a la capacidad de los bioreactores para retener N-NO₃.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Estudio

El estudio se realizó en una microcuenca situada en el sector norte del valle central de Chile (Figura 1), perteneciente a la comuna de Pichidegua, Provincia de Cachapoal, Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, bajo un sistema de monocultivo de maíz para grano (*Zea mays* L.) y barbecho entre los meses de Octubre – Marzo (2013 – 2014). El sitio de estudio se ubicó en la localidad de El Caleuche (Lat. 34° 25' 46" S, Long. 71° 21' 54" W, altitud 124 m).

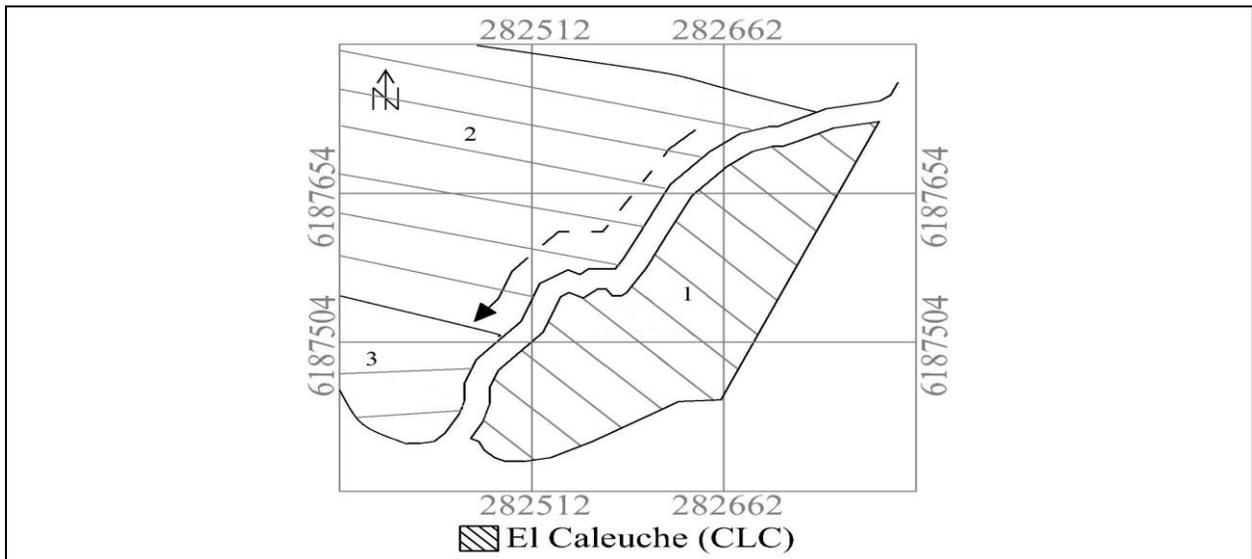


Figura 1. Ubicación del sitio experimental. En los ejes X e Y se muestran las coordenadas UTM. Además se aprecian los potreros que alimentan al canal de desagüe (1 - 2 - 3).

La localidad posee un régimen térmico que varía, en promedio, entre temperaturas máximas de 29 °C en el mes de enero y una mínima de 4,9 °C en julio (INIA, 2013), corresponde a un clima semiárido Mediterráneo, con veranos cálidos e inviernos relativamente fríos, con una precipitación media anual de 696 mm concentradas entre los meses de mayo a octubre (Santibáñez y Uribe, 1993).

El suelo de la zona de estudio pertenece a la Serie de Suelos Caleuche, clasificado por CIREN (1996), como parte de la Familia franco arcillosa fina, de los Typic Duraqualf, caracterizado por presentar suelos planos y delgados, con drenaje imperfecto y presencia de duripán a los 96 cm.

Descripción del ensayo en campo

En este estudio se evaluó el uso de tres tipos de sustratos orgánicos, con los cuales se rellenaron los bioreactores (bioreactor II, según resultados del capítulo anterior), mientras que el bioreactor

control no posee sustrato. Los sustratos son restos de poda de vid (*Vitis vinifera*) obtenidos del Valle del Maipo, rastrojo de maíz, procedentes de la comuna de Pichidegua y aserrín de pino, adquirido en un aserradero ubicado en el Campus Sur de la Universidad de Chile. Todos los sustratos fueron triturados hasta alcanzar un tamaño menor a 5,0 mm.

Los bioreactores se ubicaron en tres posiciones dentro del canal de desagüe de la microcuenca: entrada, centro y salida; para evaluar la efectividad de éstos ante distintas cargas de N-NO₃ que se pudieron generar dentro del canal (Figura 2).

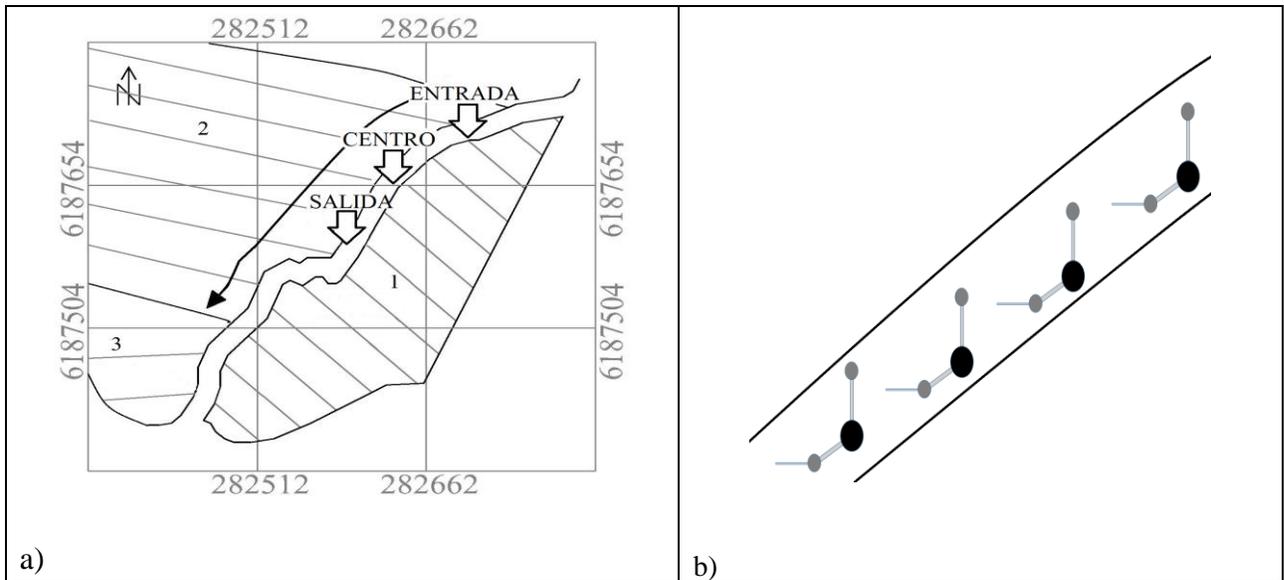


Figura 2. a) Localización de los bioreactores (bloques) en el canal de desagüe. Las flechas color blanco indican la ubicación de los bioreactores en el canal, mientras que la flecha negra indica la dirección del flujo de agua. b) Bioreactores observados de un plano superior en el canal de desagüe.

Muestreo de agua

La obtención de muestras de aguas de entrada y salida de cada bioreactor ubicado en el canal de desagüe se realizó una vez a la semana entre Octubre de 2013 y Marzo de 2014 (10:00 am – 14:00 pm) para el análisis de N-NO₃, conductividad eléctrica (CE), pH y oxígeno disuelto (OD).

Se realizaron muestras compuestas de agua para que se representara de mejor forma el contenido de N-NO₃. Así, se obtuvieron tres muestras de agua para la entrada y salida de cada bioreactor, tomadas cada una hora. Las muestras fueron guardadas en botellas plásticas de 100 ml, mantenidas en un cooler a 4°C, fueron transportadas el mismo día al laboratorio para ser analizadas dentro de 48 horas.

VARIABLES A EVALUAR EN TERRENO

En las aguas recolectadas en el canal de desagüe se determinaron el contenido de oxígeno disuelto (mg L^{-1}), utilizando un medidor portátil de oxígeno disuelto (HI9146 Hanna Instruments, EE.UU), pH, temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y conductividad eléctrica (dS m^{-1}), medidos con un pH-metro de campo (HI991301 Hanna Instruments, EE.UU).

VARIABLES A EVALUAR EN LABORATORIO

En los restos vegetales, con los cuales se rellenaron los bioreactores, se determinó el C orgánico mediante el método de calcinación (550°C) en mufla (Labtech, LEF-115S), mientras que el contenido de N total fue obtenido mediante digestión ácida (Lachica *et al.*, 1965). Estas evaluaciones se realizaron al inicio y al final del estudio para establecer las relaciones C/ N en cada tratamiento.

Previo a los análisis, las muestras de aguas del canal fueron ambientadas a temperatura de 20°C y posteriormente filtradas utilizando filtros tipo pirinola de $0,45\ \mu\text{m}$ libres de N-NO_3 , las que dieron un filtrado claro, en el cual se determinaron las formas nitrogenadas. En las muestras de aguas se determinó la concentración de NO_3^- ($\text{mg N-NO}_3\ \text{L}^{-1}$) usando un kit Hach (NitraVer® Reagent Set X Cat N° 26053-45, EE.UU) por métodos colorimétricos, utilizando un espectrofotómetro (Hach DR5000, EE.UU). Además, se midió la demanda química de oxígeno (DQO) utilizando un kit Hach (solución de digestión para COD Rango 3-150 ppm art 21258-25, EE.UU), siguiendo los métodos propuesto por Hach (2005). El agua del canal se caracterizó mediante la Norma secundaria de calidad ambiental (CONAMA, 2006).

ANÁLISIS DE CARGAS Y EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE NITRÓGENO-NITRATO

La carga neta de N-NO_3 es la cantidad de nutriente en un tiempo específico. Para su determinación se debe obtener el caudal junto con la concentración de N-NO_3 en el agua. Dicho esto, se identificó el área de flujo del canal de desagüe de la siguiente forma:

$$A_f = h \times a \quad \text{Ec.1}$$

Donde A_f corresponde al área de flujo (m^2), h es la altura (m) del tirante de agua y a al ancho (m) de la sección transversal del canal. Además una vez al mes se determinó la velocidad del flujo del agua (V_f) en las tres secciones del canal de desagüe (entrada, centro, salida), para calcular el caudal. Esto fue realizado con un colorante natural como trazador (azul brillante) en un tramo de 10 m.

Para obtener la carga de N-NO_3 del canal de desagüe ($C_{\text{N-NO}_3\ \text{C}}$), se utilizó la diferencia de concentraciones de N-NO_3 ($\Delta\ \text{N-NO}_3\ \text{C}$) entre el bloque de entrada y salida (Figura 2), el A_f y V_f , para determinar caudal y finalmente un periodo de tiempo (t), obteniendo la siguiente ecuación:

$$C_{\text{N-NO}_3\ \text{C}} = \sum (\Delta\ \text{N-NO}_3\ \text{C} * A_f * V_f * t) \quad \text{Ec.2}$$

De la misma forma se determinó la carga de N-NO₃ de todos los bioreactores en el canal de desagüe ($C_{N-NO_3 B}$). La diferencia de concentraciones fue entre la entrada y salida de cada bioreactor ($\Delta N-NO_3 B$), mientras que el A_f se calculó por el promedio de los radios de cada tubo de salida del bioreactor (0,015 m) y la V_f se determinó por el promedio de tiempo que demoraba en trasladarse el agua entre la entrada y salida del bioreactor (0,01 m s⁻¹). El periodo de tiempo (t) fue el mismo para el canal de desagüe.

$$C_{N-NO_3 B} = \sum (\Delta N-NO_3 B * A_f * V_f * t) \quad \text{Ec.3}$$

Además se determinó la eficiencia de remoción de N-NO₃ (ER N-NO₃) entre las cargas de entradas y salidas en los bioreactor, para cada una de las fechas de medición.

$$ER.N - NO_3 = \sum \left[\frac{[N - NO_3 Entrada] - [N - NO_3 Salida]}{[N - NO_3 Entrada]} \times 100 \right] \quad \text{Ec.4}$$

Diseño experimental y análisis estadístico

La unidad experimental correspondió a un bioreactor compuesto por la estructura plástica de 20 cm de diámetro y 30 cm de alto. Se establecieron cuatro tratamientos con tres repeticiones, donde las variables a evaluar fueron el tipo de material orgánico y la posición dentro del canal de desagüe (Cuadro 1).

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos del ensayo de campo

Tratamiento	Material Orgánico
T0	Ninguno
T1	Restos de cosecha maíz
T2	Restos de poda
T3	Viruta de Pino

Los resultados para el ensayo de campo fueron sometidos a un análisis de varianza mediante modelos mixtos (ANDEVA), para determinar diferencias significativas en las variables de concentración, carga y eficiencia de remoción de N-NO₃ ($p < 0,05$), de acuerdo a un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones; si existiesen diferencias significativas, se utilizó la prueba de comparación múltiple DGC. Cabe destacar que para la variable concentración de salida, se usó la covariable concentración de entrada, pudiendo observar si es determinante en el análisis. Los bloques correspondieron a las distintas posiciones dentro del canal de desagüe (Figura 2). Además se utilizó el programa Infostat y un software complementario R.

Para el análisis de datos de material orgánico (C/ N), se realizó una comparación mediante t -Student ($p < 0,05$) por tratamientos, para ver si existe diferencias en el material orgánico al inicio y al final del estudio.

RESULTADOS

Condiciones climáticas del sitio en estudio

La Figura 3 muestra la precipitación acumulada durante el período de estudio. La cifra acumulada desde Octubre a Marzo fue de 9 mm. En comparación a los últimos 10 años, este valor alcanza sólo el 23% de precipitación acumulada esperada para esa fecha (Dirección General de Aguas, 2015).

La temperatura media registrada durante el período de medición fue de 17,9 °C. Los meses más fríos (Octubre – Noviembre) presentaron una temperatura media de 15,8 °C, mientras que la temperatura media en los meses más cálidos (Enero – Febrero) fue de 20 °C.

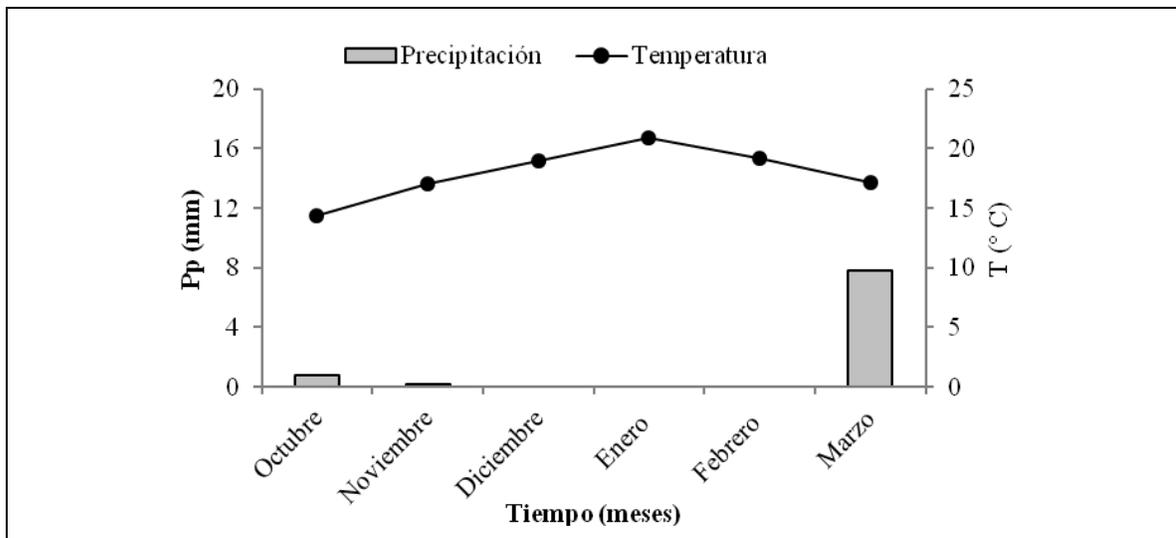


Figura 3. Precipitación (pp) medida e informada por DGA para la estación Pichidegua, junto con temperatura media mensual (T) medidas en el lugar de estudio (Temporada 2013 - 2014).

Parámetros de calidad de agua en las distintas fechas de medición

En el Cuadro 2, se presentan los distintos parámetros de calidad de agua a lo largo del estudio. Los valores de pH tendieron a mantenerse neutros a ligeramente neutros, y en sólo la séptima fecha de muestreo alcanzó valores moderadamente alcalinos (pH 8,1), datos normales para aguas de riego cuyos valores deben variar entre pH 5,5 – 9,0 (INN, 2005).

La conductividad eléctrica en las aguas del canal de desagüe se mantuvo en niveles no salinos en la mayoría de las fechas de medición, y en sólo la sexta fecha esta aumentó notablemente hasta alcanzar valores promedios de 2,9 dS m⁻¹, indicando valores moderadamente salinos.

La temperatura presentó una variación entre los 14,8 y 28,3 °C, alcanzando los mayores valores en el mes de Enero (Fechas de medición 3 – 4 – 5 – 6).

Las concentraciones de OD se mantuvieron constantes a lo largo de toda la medición presentando valores promedio de 6,7 mg L⁻¹, siendo como límite 5,0 mg L⁻¹ para bacterias y vegetales acuáticos (INN, 2005).

Cuadro 2. Parámetros de Calidad de Agua obtenidos en el canal de desagüe.

Variable	Parámetros de calidad de agua ^{1,2}				
	pH	T ---° C---	CE ---dS m ⁻¹ ---	OD ---mg L ⁻¹ ---	DQO ---mg L ⁻¹ ---
Valor	7,5 ± 0,4	21,3 ± 4,5	0,9 ± 0,8	6,7 ± 0,8	17,5 ± 4,2

¹ T = temperatura; CE = Conductividad eléctrica; OD = Oxígeno disuelto; DQO = Demanda Química de Oxígeno.

² Media ± desviación estándar.

Medición de relación C/ N en tratamientos con material orgánico

A continuación se presentan los valores de la relación C/ N de los materiales orgánicos utilizados en los tratamientos al inicio y al final del estudio. La relación C/ N no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en el tiempo en cada tratamiento.

Se destaca que el valor inicial de C/ N para el tratamiento T2 supera en un 55% al tratamiento T1 y en un 60% al tratamiento T3.

Cuadro 3. Resultados iniciales y finales de relación carbono nitrógeno (C/ N) en los tratamientos evaluados.

Tratamiento	Relación C/ N ^a	
	Inicial	Final
T0	-----	-----
T1	79,0 ± 3,9 a	76,6 ± 1,7 a
T2	141,0 ± 1,5 a	137,3 ± 2,0 a
T3	55,0 ± 3,5 a	53,9 ± 0,5 a

^a Letras distintas en una fila indican diferencias significativas entre tratamientos según *t*-Student ($p < 0,05$). Media ± desviación estándar.

Concentración y carga de nitrógeno-nitrato

Concentración nitrógeno-nitrato en aguas del canal de desagüe

En la Figura 4, se aprecian las concentraciones medias de N-NO₃ en el canal de desagüe estudiado a lo largo del tiempo, junto con el límite máximo permitido de nitratos para el agua potable en Chile. Las mediciones indicaron concentraciones que variaron entre 3,0 y 16 mg N-NO₃ L⁻¹. En la figura se aprecia que en la segunda fecha de medición, la concentración de N-NO₃ superó la norma establecida para agua potable (> 10 mg N-NO₃ L⁻¹), superando además la media de concentraciones de todas las fechas de medición en una relación 4:1.

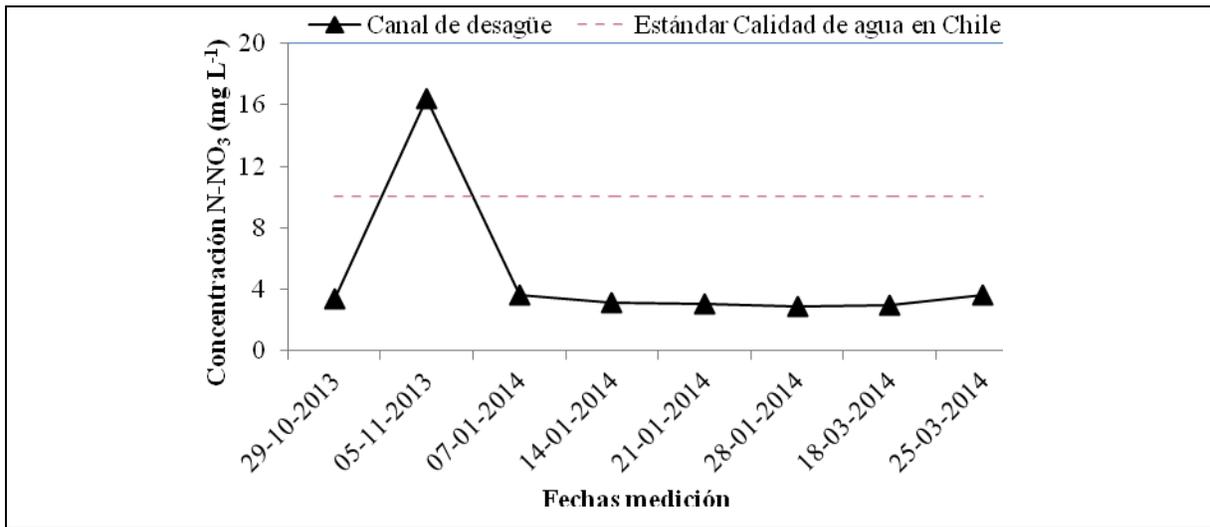


Figura 4. Concentración media de nitrógeno-nitrato (N-NO₃) (mg L⁻¹) en el canal de desagüe en distintas fechas de medición. La línea punteada indica el límite máximo permitido de nitratos para el agua potable en Chile (INN, 2005).

Concentración nitrógeno-nitrato de bioreactores, en fechas de medición

Los resultados presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las concentraciones de N-NO₃ de entrada y salida en las fechas de medición. En el Cuadro 2, se observa que para las concentraciones de entrada, sólo la segunda fecha presenta valores significativos en comparación a las demás fechas. Por otro lado, para las concentraciones de salida, se destaca que en la segunda fecha de medición hay una disminución de un 60% en comparación al contenido inicial de N-NO₃.

Cuadro 4. Concentración de nitrógeno-nitrato (N-NO₃) (mg L⁻¹) de entrada y salida en las distintas fechas de medición.

Fechas Medición	Concentración N-NO ₃ ^a	
	Entrada	Salida
-----mg N-NO ₃ L ⁻¹ -----		
1.- 29-10-2013	3,4 ± 0,4 b	2,6 ± 0,9 a
2.- 05-11-2013	16,4 ± 1,4 a	6,6 ± 2,9 a
3.- 07-01-2014	3,6 ± 0,2 b	1,9 ± 0,8 b
4.- 14-01-2014	3,1 ± 0,5 b	1,1 ± 0,7 c
5.- 21-01-2014	3,1 ± 0,4 b	1,6 ± 0,6 b
6.- 28-01-2014	2,9 ± 0,4 b	1,7 ± 0,7 b
7.- 18-03-2014	2,9 ± 0,9 b	1,4 ± 0,6 b
8.- 25-03-2014	3,6 ± 0,5 b	1,2 ± 0,4 c

^a Letras distintas en una columna indican diferencias significativas entre las distintas fechas de medición, según prueba DGC ($p < 0,05$, ANDEVA en base a Modelos Mixtos). Media ± desviación estándar.

Concentración nitrógeno-nitrato de bioreactores, en distintos tratamientos

En el Cuadro 5, se presentan las concentraciones de entrada y salida de cada bioreactor. Este indica que no existieron diferencias significativas en las concentraciones de N-NO₃ de entrada en los tratamientos ($p > 0,05$). Por otro lado, la concentración de N-NO₃ de salida muestra que existieron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$). Estas diferencias se aprecian en los tratamientos con material orgánico y el tratamiento control.

Cuadro 5. Concentraciones de nitrógeno-nitrato (N-NO₃) de entrada y salida en los distintos tratamientos.

Tratamiento	Concentración N-NO ₃ ^a	
	Entrada	Salida
-----mg N-NO ₃ L ⁻¹ -----		
T0	4,9 ± 4,4 a	3,0 ± 2,3 b
T1	4,9 ± 4,7 a	2,1 ± 2,4 a
T2	5,0 ± 4,7 a	2,1 ± 2,0 a
T3	4,8 ± 4,1 a	2,0 ± 1,5 a

^a Letras distintas en una columna indican diferencias significativas entre tratamientos según prueba DGC ($p < 0,05$, ANDEVA en base a Modelos Mixtos). Media ± desviación estándar.

Carga nitrógeno-nitrato de bioreactores, en distintas fechas de medición

Las cargas de N-NO₃ en la entrada presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$), en donde la fecha de medición 2 alcanzó las mayores cargas de N-NO₃, en comparación con las otras fechas. Mientras que en las cargas de salida, en la segunda fecha ocurre la mayor carga de N-NO₃, al igual que la carga de entrada (Cuadro 6).

Cuadro 6. Cargas de nitrógeno-nitrato (N-NO₃) en bioreactores de entrada y salida, en las distintas fechas de medición.

Fechas de Medición	Carga N-NO ₃ ^a	
	Entrada	Salida
	-----g N-NO ₃ d ⁻¹ -----	
1.- 29-10-2013	1,9 ± 0,3 b	0,4 ± 0,4 b
2.- 05-11-2013	9,0 ± 0,8 a	5,3 ± 1,7 a
3.- 07-01-2014	2,0 ± 0,1 b	1,0 ± 0,5 b
4.- 14-01-2014	1,7 ± 0,3 b	1,1 ± 0,5 b
5.- 21-01-2014	1,7 ± 0,2 b	0,8 ± 0,4 b
6.- 28-01-2014	1,6 ± 0,2 b	0,6 ± 0,3 b
7.- 18-03-2014	1,6 ± 0,5 b	0,8 ± 0,5 b
8.- 25-03-2014	1,9 ± 0,3 b	1,3 ± 0,4 b

^aLetras distintas en una columna indican diferencias significativas entre las fechas de medición, según prueba DGC ($p < 0,05$, ANDEVA en base a Modelos Mixtos). Media ± desviación estándar.

Carga nitrógeno-nitrato de bioreactores, en distintos tratamientos

Al igual que ocurre en las concentraciones de N-NO₃ de entrada, las cargas de entrada no tienen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los distintos tratamientos (Cuadro 7). Mientras que las cargas de N-NO₃ de salida, los tratamientos con material orgánico (T1, T2 y T3) presentaron un mismo comportamiento con las concentraciones de N-NO₃, siendo significativos ($p < 0,05$) en comparación al tratamiento control.

Cuadro 7. Cargas de nitrógeno-nitrato (N-NO₃) de bioreactores en la entrada y salida, en distintos tratamientos.

Tratamiento	Carga N-NO ₃ ^a	
	Entrada	Salida
	-----g N-NO ₃ d ⁻¹ -----	
T0	2,7 ± 2,4 a	1,0 ± 1,5 b
T1	2,7 ± 2,6 a	1,5 ± 1,7 a
T2	2,8 ± 2,6 a	1,6 ± 1,9 a
T3	2,7 ± 2,5 a	1,6 ± 1,6 a

^a Letras distintas en una columna indican diferencias significativas entre los tratamientos, según prueba DGC ($p < 0,05$, ANDEVA en base a Modelos Mixtos). Media ± desviación estándar.

Eficiencia de remoción de nitrógeno-nitrato de bioreactores, en fechas de medición

La eficiencia de remoción (ER) presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) en las distintas fechas de medición (Figura 5). Por otro lado, la ER promedio de los bioreactores presentada en todas las fechas de medición es de un 50%. Además entre la primera y última fecha de medición, la ER aumenta en un 40% aproximadamente.

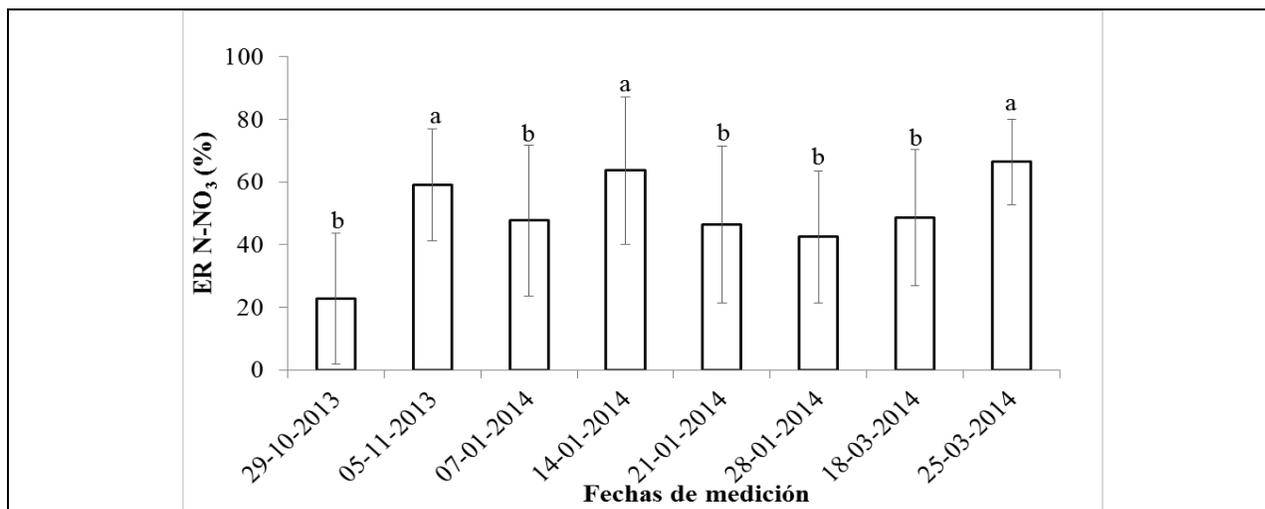


Figura 5. Eficiencia de remoción de nitrógeno-nitrato (N-NO₃) (%), en las distintas fechas de medición. Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas entre fechas de medición según prueba DGC ($p < 0,05$, ANDEVA en base a Modelos Mixtos). Línea vertical indica \pm desviación estándar.

Eficiencia de remoción de nitrógeno-nitrato de bioreactores, en distintos tratamientos

En el Cuadro 8, se presentan diferencias significativas en la ER entre los tratamientos evaluados ($p < 0,05$). El tratamiento control (T0) presentó las menores ER en comparación a los tratamientos con material orgánico. Entre los tratamientos T1, T2 y T3 no se observan diferencias significativas. Se destaca que los tratamientos con material orgánico aumentaron ER en alrededor de un 60% en comparación al tratamiento control.

Cuadro 8. Eficiencia de remoción de nitrógeno-nitrato (N-NO₃) (%) de los bioreactores, en los distintos tratamientos.

Tratamiento	ER N-NO ₃ -----%-----
T0	32,8 \pm 23,2 b
T1	57,3 \pm 19,4 a
T2	53,7 \pm 24,2 a
T3	54,8 \pm 23,2 a

Letras distintas en la columna indica diferencias significativas entre tratamientos según prueba DGC ($p < 0,05$, ANDEVA en base a Modelos Mixtos). Media \pm desviación estándar.

DISCUSIÓN

Parámetros de calidad de agua

pH

La importancia del pH a lo largo del estudio radica en su relación con el proceso de desnitrificación, (Tate, 2000), dado que el pH óptimo para los microorganismos que participan en este proceso varía entre los pH 6,0 – 8,0 (Mathava *et al.*, 2010). Damaraju *et al.* (2015), con una ER de N-NO₃ del 99% en bioreactores, evaluaron variaciones de pH entre 6,5 – 7,5. En este estudio se registró que el pH en muestras de agua del canal de los bioreactores varió entre los 6,6 y los 8,2, lo que no habría afectado negativamente al proceso de desnitrificación.

Temperatura

Uno de los factores determinantes para el proceso de desnitrificación es la temperatura del agua de drenaje o del canal de desagüe. En general, las tasas de reacciones biológicas aumentan junto con la temperatura, existiendo una relación positiva entre la eliminación de N-NO₃ y la temperatura media (Cameron y Schipper, 2010; Robertson *et al.*, 2008; Robertson *et al.*, 2009), incluso con temperaturas bajas entre los 2 – 4 °C (Robertson y Meckley, 2009). Las condiciones de temperatura en el ensayo se mantuvieron en niveles adecuados para el desarrollo de microorganismos responsables del proceso de desnitrificación, con temperaturas mayores a 15 °C y con un promedio de 21 °C, entre los meses de Octubre y Marzo. Greenan *et al.* (2009), en condiciones controladas indicó temperaturas medias de 10 °C, con una remoción de N-NO₃ de 98%, mientras que Healy *et al.* (2006), con temperaturas medias de 17 °C obtuvo una remoción de 97%.

Oxígeno Disuelto

La baja concentración de OD es uno de los principales factores para que ocurra el proceso de desnitrificación (Robertson, 2010). El N-NO₃ se elimina a bajos niveles de OD, entre 0,15 – 0,35 mg L⁻¹. La ER de NO₃⁻ se reduce en un 17% a medida que aumenta el OD a 0,5 mg L⁻¹ (Hocaoglu *et al.*, 2011; Koreom *et al.*, 2011). Otras investigaciones también han reportado que las bacterias desnitrificantes pueden tolerar concentraciones de OD de hasta 4,5 mg L⁻¹ (Gómez *et al.*, 2002; Foglar *et al.*, 2005).

Por otro lado, Robertson (2011), en un estudio de columnas con recarga continua de agua, encontró valores de OD de 7 mg L⁻¹, los que disminuyen a 2 mg L⁻¹, con tiempos de retención hidráulica (TRH) de 1 h y ER de N-NO₃ de un 75%. Adicionalmente, Christianson (2011), en un ensayo con cuatro tipos de bioreactores, reportó valores de OD de entrada mayores a 8,5 mg L⁻¹ en verano y menores a 5 mg L⁻¹ en otoño, los cuales disminuyeron a valores < 2 mg L⁻¹ a la salida de los bioreactores. Estos ensayos presentaron valores promedios de TRH de 0,6 h y una ER N-

NO₃ de un 45%. Así, altas concentraciones de OD en el agua pueden ser disminuidas con altos TRH.

En el ensayo en el canal de desagüe se presentaron valores promedios de OD de 6,5 mg L⁻¹, los cuales pueden ser comparados con los autores mencionados anteriormente. El valor de TRH fue de 0,06 h, con un promedio en la ER de N-NO₃ de un 50%.

Concentración de nitrógeno-nitrato en el canal de desagüe

Las mediciones de N-NO₃ indicaron concentraciones que variaron entre 3 mg N-NO₃ L⁻¹ en la mayoría de las fechas de medición, y en sólo la segunda fecha ésta sobrepasó el límite establecido por la Norma chilena, de 10 mg N-NO₃ L⁻¹ (INN, 2005). Estas mediciones, estarían dentro de los rangos obtenidos por Hurtado (2015), entre los meses de enero y marzo, con concentraciones < 10 mg N-NO₃ L⁻¹.

Iriarte (2007), realizó un estudio sobre clasificaciones de riesgos de lixiviación en la cuenca del Cachapoal, en el extremo norte de la cuenca del río Tinguiririca, concluyendo que la zona presenta un riesgo medio a alto, especialmente en suelos Inceptisoles. Además se encontró que la mayoría de las muestras del río, canales y pozos, contenía concentraciones por encima del nivel establecido (Golembesky, 2004; Iriarte, 2007). A lo anterior se menciona que puede haber un aumento de las descargas de aguas en el sector del Caleuche, debido a la presencia de un horizonte con duripan (Cm), generando flujo lateral subsuperficial, evitando así la lixiviación y el aumento de las cargas de N-NO₃ hacia el canal de desagüe (Corradini, 2012; Follet, 2008; Hofmann *et al.*, 2004; Rojas, 2015). Además, el régimen de precipitaciones y la temperatura son dos de los factores más importantes que determinan el suministro de N-NO₃ desde el suelo, donde podría esperarse que en un suelo de secano de la zona central de Chile los niveles de N-NO₃ sean más altos en primavera y en otoño, después de las primeras lluvias. En consecuencia al haber más N-NO₃ disponible en el suelo, dado las altas fertilizaciones realizadas en la zona (> 300 kg N ha⁻¹), es esperable que los niveles de N-NO₃ en los cuerpos de agua cercanos se incrementen si se generan las condiciones para su desplazamiento (Salazar, O y Nájera, F, 2011).

Corradini (2012), en el canal de desagüe estudiado, encontró que las concentraciones de N-NO₃ aumentaron durante invierno del año 2012. La misma tendencia se presentó en el estudio realizado por Bowes *et al.* (2011) en el río Frome, Reino Unido, encontrando que las concentraciones de N-NO₃ mostraron claros ciclos anuales, con valores más altos en verano e invierno, respectivamente, debido al aumento de las descargas de agua por lluvias y riegos. Dicho esto, las altas concentraciones en la segunda fecha de medición podrían estar dadas especialmente por el uso de riego y el excesivo uso de fertilizantes (> 300 kg N ha⁻¹), ya que las precipitaciones en el ensayo fueron mínimas en esa época.

Relación carbono nitrógeno (C/ N) en tratamientos con material orgánico

La relación C/ N del tratamiento T1, con una relación de 79 fue similar a los datos presentados por Apablaza (2014). Rodríguez (1993), menciona una relación de 60 o cercano a este valor, al igual que Barreto (1989), citando valores entre 60 – 80. Para el tratamiento T2 con promedios de C/ N de 141, INIA cita valores de 115 para sarmientos de vides, y de 135 para restos de cosecha de frutales en general, por lo que estaría cercano al rango obtenido en las muestras del ensayo. Finalmente el tratamiento T3 con material vegetal presentó valores inferiores a los presentados anteriormente, con un promedio de C/ N de 55, lo cual no era esperado, teniendo en cuenta que se trata de aserrín de pino, en donde la literatura cita valores superiores a 200.

Con respecto a la relación C/ N en el tiempo, en el estudio no se presentaron cambios en los distintos materiales orgánicos utilizados, lo que se ve reflejado en la mayoría de los estudios. Moorman *et al.* (2010), en un estudio durante 8 años con fuentes de C en base a madera, concluyó que las muestras que estuvieron en condiciones saturadas, contenían un 80% del C del comienzo del ensayo, promediando una vida útil para el material de 36 años y una ER de N-NO₃ de 60%. Lo anterior se debe a que en condiciones saturadas hay una lenta velocidad de descomposición de la madera. Robertson (2010), en un estudio con astillas de madera tras 7 años de trabajo, presentó ER de N-NO₃ de un 75%; mientras que Schipper y Vojvodic-Vukovic (2001), informaron que no hubo pérdida de C en más de 5 años, por lo que la relación C/ N no se vio disminuida.

En general, no se conoce con exactitud, el tiempo de agotamiento de C, dado que ninguno de los sistemas de bioreactores estudiados han presentado fallas a lo largo del tiempo (Schipper *et al.*, 2010). De esta forma, la duración de los bioreactores es muy importante ya que éstos probablemente no serían económicamente factibles, si la fuente de C fuese reemplazada frecuentemente (Robertson *et al.*, 2000).

Dada la información por distintos autores, se establece que el presente estudio realizado en el canal de desagüe concuerda con éstos, ya que la relación C/ N no se ve influenciada, lo que también puede estar relacionado al poco tiempo de estudio en el canal.

Concentración de nitrógeno-nitrato en bioreactores

Las concentraciones N-NO₃ de entrada (las mismas concentraciones del canal de desagüe) presentaron diferencias significativas, y en sólo la segunda fecha de medición superó el promedio de las mediciones. Esto fue abordado anteriormente, en donde se presentaron ciclos anuales de flujo de N-NO₃, los que están influenciados por las lluvias en invierno y riegos en las estaciones de verano.

Con respecto a las concentraciones de N-NO₃ de salida, en todas las fechas de medición existió una disminución con respecto a la concentración de N-NO₃ de entrada. En la primera fecha hubo una caída de un 25%, mientras que en la segunda fecha de medición se destaca una remoción del 60%. En las siguientes fechas hubo un promedio de 50%, finalizando cerca del 70%. Estos

resultados indican que los bioreactores con material orgánico fueron capaces en disminuir la concentración de N-NO₃ de cursos de agua, mediante procesos de inmovilización o desnitrificación.

Un estudio realizado durante dos años por Healy *et al.* (2012), presenta que las concentraciones de N-NO₃ en bioreactores fueron siempre menores en la salida de éstos, utilizando materiales orgánicos con una relación C/ N entre 50 – 500, valores similares al ensayo. Mientras que Jaynes *et al.* (2008), en un estudio en temporada primavera – verano, midió las concentraciones de N-NO₃ determinando que las concentraciones de salida eran menores que las de entrada (> 50%), utilizando astillas de madera.

Además se destaca que la concentración de entrada de N-NO₃ en la segunda fecha de medición sobrepasa el límite establecido (>10 mg N-NO₃ L⁻¹), mientras que la concentración de salida de N-NO₃ presentó rangos inferiores, dato relevante que demuestra que los bioreactores disminuyen las concentraciones de N-NO₃ en aguas.

Eficiencia de remoción de nitrógeno-nitrato en bioreactores

En las fechas de medición se apreció una alta ER de N-NO₃, comenzando con un promedio de 20% en la primera medición, mientras que en las siguientes fechas fue mayor al 50%, con valores superiores al 60%. Si bien existe un aumento en la ER de N-NO₃ en el ensayo, no existe una estabilización, lo que puede haber estado dado por el bajo tiempo de medición del estudio (5 meses de medición).

Con respecto a los tratamientos con material orgánico (T2 – T3 – T4), no hubo diferencias significativas entre éstos en el análisis de concentraciones, cargas y ER N-NO₃. Lo anterior indica que la diferencia de relación C/ N entre los materiales no tuvo efecto, por lo que sólo el uso de material vegetal con alta relación C/ N en bioreactores tiene efecto significativo, pudiendo utilizar cualquier material con relaciones C/ N altas.

Healy *et al.* (2012), en el primer año de estudio, utilizando hojas y aserrín de pino con una relación C/ N de 50 y 500 respectivamente, destaca que la ER N-NO₃ varió entre un 65 – 85%, los datos anteriores son similares a los presentados en este estudio con relaciones C/ N entre 50 – 120. Si bien el promedio de ER N-NO₃ fue de un 50%, en algunas fechas de medición alcanzó valores de un 65%.

Sobre el tratamiento T0 (sin material orgánico) existieron diferencias significativas, en donde el T0 obtuvo los menores valores en los parámetros de concentraciones, cargas y ER N-NO₃, indicando que existe una relación directa en el uso de material vegetal con relación C/ N alta (> 30). Si bien hubo una ER N-NO₃ mayor al 50% en los tratamientos con material orgánico, en el tratamiento T0, se presentó un promedio de un 30%, indicando que en los bioreactores pudieron haber tenido un aporte de C, debido a la presencia de sedimentos en el flujo de entrada de los bioreactores.

Cargas de nitrógeno-nitrato en el canal de desagüe y en bioreactores

Las cargas de N-NO₃ en el canal de desagüe (Apéndice A.3), variaron a lo largo del tiempo. En algunas de las fechas de medición no hubo una ganancia de N-NO₃ a lo largo del canal, por lo que se obtuvieron cargas negativas (diferencia de concentración de N-NO₃ entre bloques de salida y entrada negativas), lo que se traduce en el uso de este nutriente a lo largo de la microcuenca. Lo anterior pudo estar dado por procesos de desnitrificación, dada las bajas velocidades de flujo en el canal de desagüe (Seitzinger, 2002).

La máxima carga de N-NO₃ alcanzada por el canal de desagüe se registró en la séptima fecha con un total de (14 kg N-NO₃ d⁻¹), mientras que en los bioreactores promediaron 0,6 g N-NO₃ d⁻¹ en todas las fechas de medición, valor considerablemente más bajo que el canal, por lo que no sería suficiente para eliminar parte del N-NO₃.

Una alternativa a seguir para que la función de los bioreactores sea factible a la hora de disminuir significativamente las cargas de N-NO₃ del canal, es aumentar la capacidad de flujo y de volumen de éstos. Dicho esto, se realizó una simulación en donde el volumen de los bioreactores fue aumentado de tal forma que éstos puedan surtir efecto en el canal, para luego ver si es posible realizar nuevos estudios.

En el siguiente cuadro se presenta el volumen de flujo activo (Vfa) de distintos bioreactores y la carga de N-NO₃ de bioreactores y canal de desagüe.

Cuadro 9. Simulación de cargas para un nuevo bioreactor y máxima carga de nitrógeno en el canal de desagüe.

Modelo	Variables ¹	
	Vfa	Carga
	---m ³ ---	---kg N-NO ₃ d ⁻¹ ---
Bioreactor ensayo	0,0026	0,0006
Bioreactor X	2,6	0,6
Canal de desagüe	-----	14,3

¹ Vfa = Volumen de flujo activo.

Dado estos datos, el bioreactor X aumenta la carga en una relación de 1000:1 con respecto al bioreactor en el ensayo, pero de todas formas su carga es inferior a la máxima del canal de desagüe. Es por esto que una de las soluciones sería instalar un número considerable de bioreactores a lo largo de la microcuenca, aumentando la carga total. Con la instalación de diez bioreactores la carga aumentaría a 6 kg N-NO₃ d⁻¹. Si bien este valor alcanzaría el 40% sobre la máxima carga en el canal, este abarcaría un 75% de la segunda fecha con mayor carga en el canal de desagüe (segunda fecha de medición) y además sobrepasaría el promedio de carga del canal de 2,6 kg N-NO₃ d⁻¹, en un 65%. Por lo tanto, el uso de bioreactores con mayores Vfa, podrían ser una solución para disminuir las cargas de N-NO₃ en el canal de desagüe.

CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio sugieren que los bioreactores utilizados fueron capaces de disminuir las cargas de formas nitrogenadas entre la entrada y salida, con eficiencias de remoción significativas. Si bien se logró disminuir la carga de formas nitrogenadas en los bioreactores, para reducir las cargas de N del canal de desagüe, se debiese aumentar la capacidad de almacenamiento de éstos.

La eficiencia de los bioreactores con materiales vegetales en comparación al tratamiento control, fue considerablemente mayor, resultado esperado al utilizar sustratos con alta relación C/ N. Al comparar la eficiencia de los distintos materiales vegetales, con diferentes relaciones C/ N entre ellas, no se encontraron diferencias significativas, por lo que el tipo de material no fue determinante en este estudio.

Al observar distintos parámetros de calidad de agua, como el pH, temperatura y oxígeno disuelto, se determinó que éstos estaban dentro de los rangos establecidos para que los bioreactores pudieran reducir el contenido de N de las aguas del canal de desagüe. Por otro lado, la concentración de N-NO₃ del canal de desagüe alcanzó niveles altos en sólo una fecha de medición, la que se pudo deber a la variación dada por la estación del año, junto con las altas aplicaciones de fertilizaciones en las épocas de riego.

LITERATURA CITADA

Alvarado, M. 1999. Preparación y desinfección de sustratos para la propagación de plantas hortícolas. Curso de horticultura I. Facultad de agronomía. Universidad de Costa Rica, San Pedro. 5 p.

Apablaza, N. 2014. Impacto de la aplicación de fertilizantes nitrogenados en la lixiviación y absorción de nitrógeno en un suelo de textura gruesa cultivado con maíz grano en la región de O'Higgins. Memoria para optar al título de ingeniero agrónomo. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 34 p.

Armstrong, A.C., Burt, T.P. 1993. Nitrate losses from agricultural land. In: Burt, T.P., Heathwaite, A.L., Trudgill, S.T. (Eds.), Nitrate-Processes, patterns and management. John Wiley & Sons, UK. 239 – 267 pp.

Barreto, J. 1989. Cambios en propiedades químicas, patrones de fertilización y enclamiento en suelos bajo labranza cero. Documento de trabajo CIMMYT-PROCIANDINO. El Batán, México. 43-70 pp.

Blowes, D., Robertson, W., Ptacek, C., Merkle, C. 1994. Removal of agricultural nitrate from tile drainage effluent water using in-line bioreactors. *Journal of Contaminant Hydrology*. 15: 207 – 221.

Bowes, M.J; J.T. Smith; C. Neal; D.V. Leach; P.M. Scarlett; H.D. Wickham; S.A. Harman; L.K. Armstrong; J. Davy-Bowker; M. Haft and C.E. Davies. 2011. Changes in water quality of the river Frome (UK) from 1965 to 2009: Is phosphorus mitigation finally working. *Science of the Total Environment*. 409: 3418 - 3430.

Cameron, S.C and L.A. Schipper. 2010. Nitrate removal and hydraulic performance of carbon substrates for potential use in denitrification beds. *Ecological Engineering*. 36: 1588 – 1595.

Christianson, L. E. 2011. Design and performance of denitrification bioreactors for agricultural drainage. M. S. thesis, *Iowa State University*.

CIREN. 1996. Estudio Agrológico VI Región. Descripción de suelos materiales y símbolos. Centro de Información de Recursos Naturales. Publicación N° 114.

CONAMA. 2006. Norma secundaria de calidad ambiental para la protección de las aguas superficiales continentales. Publicado diario oficial 16 de enero 2006. Santiago, Chile.

Corradini, F. 2012. Relationships between nitrogen and phosphorus application to maize fields and water quality in nearby drainage channels in central Chile. Tesis de Magíster en Manejo de Suelos y Aguas. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 58 p.

Dalzell, H.; A. Bioolestone and K. Gray. 1991. Manejo del suelo: Producción y uso del compostaje en ambientes tropicales y subtropicales. FAO. Roma, Italia.

Dahmke, W., Johnson, G. 1990. Testing soil for available nitrogen. In: R.L. Westerman (ed.) Soil testing and plant analysis. 3rd ed. SSSA Book Series 3. SSSA, Madison, WI. 127-139 p.

Damaraju, S; U.K. Singh; D. Sreekanth and A. Bhandari. 2015. Denitrification in biofilm configured horizontal flow woodchip bioreactor: effect of hydraulic retention time and biomass growth. *Ecohydrology and Hidrobiology*. 15: 30 – 48.

Elgood, Z., Robertson, W.D., Schiff, S.L., 2010. Greenhouse gas production in a stream bed bioreactor for nitrate removal. *Journal of Ecological Engineering*. 36: 1575 – 1580.

EPA. 2005. Ecosystem stress from chronic exposure to low-levels of nitrate. National Risk Management Research Laboratory, Office of Research and Development, Cincinnati, Ohio. 35 p.

Fenn, M., Poth, A. Aber, J., Baron J., Bordmann, B., Johnson, D. Lemly, D. McNulty, S. Ryan, D., Stottlemeyer, R. 1998. Nitrogen excess in North American Ecosystems: Predisposing factors, Ecosystem responses, and management strategies. *Ecological Applications*. 3: 706 – 733.

Foglar, L; F. Briski; L. Sipos and M. Vukovic. 2005. High nitrate removal from synthetic wastewater with the mixed bacterial culture. *Bioresource Technology*. 96: 879 – 888.

Follett, R. 2008. Transformations and Transport Processes of Nitrogen in Agricultural Systems. (Chap. 2, pp. 19-50). In: Hatfield, J. and R. Follett (Eds.). Nitrogen in the environment: sources, problems, and management. 2nd Ed. San Diego, USA: Academic Press. 702 p.

Galloway, J.N., Dentener, F. J., Capone, D. G., Boyer, E. W., Howarth, R. W., Seitzinger, S. P., Asner, G. P., Cleveland, C. C., Green, P. A., Holland, E. A., Karl, D. M., Michaels, A. F., Porter, J. H., Townsend, A. R., Vöosmarty, C. J. 2004. Nitrogen Cycles: Past, Present, and Future. *Biogeochemistry*. 70: 153 - 226.

Golembesky, R.C. 2004. Agricultural practices and nitrate pollution in ground water in the central valley of Chile. Thesis of Master of Science, University of North Carolina at Wilmington. 79 pp.

Gómez, M.A; E. Hontoria and J. González. 2002. Effect of dissolved oxygen concentration on nitrate removal from groundwater using a denitrifying submerged filter *Journal of Hazardous Materials*. 90: 267 – 278.

Greenan, C.M; T.B. Moorman; T.C. Kaspar; T.B. Parkin and J.B Jaynes. 2009. Denitrification in wood chip bioreactors at different water flows. *Journal of Environmental Quality*. 38: 1664 – 1671.

Hach. 2005. DR5000 Spectrophotometer procedures manual. 2th Ed. Hach Company. Catalog Number DOC082.98.00670. Germany. 846 p.

Havlin, J.L., Beaton, J.D., Tisdale, S.L. and Nelson, W.L. 2005. Soil Fertility and Nutrient Management: An Introduction to Nutrient Management. 7th Edition. Pearson/Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ. 515 p.

Healy, M.G; M. Rodgers and J. Mulqueen. 2006. Denitrification of a Nitrate-Rich Synthetic Wastewater Using Various Wood-Base Media Materials. *Journal of Environmental Science and Health*. 41: 779 – 788.

Healy, M.G; T.G. Ibrahim; G.J. Laningan; A.J. Serrenho and O. Fenton. 2012. Nitrate removal rate, efficiency and pollution swapping potential of different organic carbon in laboratory denitrification bioreactors. *Ecological Engineering*. 40: 198 – 209.

Hocaoglu, S.M; G. Insel; E.B. Cokgor and D. Orhon. 2011. Effect of low dissolved oxygen on simultaneous nitrification and denitrification in a membrane bioreactor treating black water. *Bioresource Technology*. 102: 4333 – 4340.

Hofmann, B.S; S.M. Brouder and R.F. Turco. 2004. Tile spacing impacts on Zea Mays L. yield and drainage water nitrate load. *Ecological Engineering*. 23: 251 - 267.

Hurtado, V. 2015. Relación entre la aplicación de nitrógeno y fósforo en el cultivo de maíz y la calidad de agua en una microcuenca de Chile central. Memoria de Título. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 31 p.

INIA, 2013. Agroclima de algunos valles chilenos: Valle de Colchagua. Región del Libertador Bernardo O'Higgins. Instituto de Investigación Agropecuaria. Disponible en: <http://platina.inia.cl/uvaconcagua/agroclima.cfm> Leído: 18 Abril del 2013.

INN (Instituto Nacional de Normalización). 2005. Norma Chilena Oficial Para Agua Potable, Nch 409/1.Of 2005 (Chilean standard for drinking water). Instituto Nacional de Normalización, Chile.

INE. 2012. [En línea] Informe cultivos anuales esenciales temporada 2011 - 2012. Superficie Sembrada, producción y rendimiento año agrícola 2011-2012. [http://www.ine.cl/canales/chile_estadistico/estadisticas_agropecuarias/2012/superficie_produccion_rendimiento_cultivos_esenciales_2011_2012_.pdf] Revisado: 30 Agosto de 2012

Iriarte, A. 2007. Evaluación especial de la lixiviación potencial de nitratos en suelos de la subcuenca del río Cachapoal bajo. Memoria de Título. Facultad de Arquitectura y Urbanismo. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 124 p.

Jaynes, D.B; T.C. Kaspar; T.B. Moorman and T.B. Parkin. 2008. In situ Bioreactors and deep drain pipe installation to reduce nitrate losses in artificially drained fields. *Journal of Environmental Quality*. 37: 429 – 436.

Keeney, D.R. 1986. Sources of nitrate to ground water. *Environmental Control*. 16: 257 - 304.

- Kim, H., Seagren, A., Davis, A. 2003. Engineered bioretention for removal of nitrate from stormwater runoff. *Water Environmentak Research*. 75: 355 – 367.
- Korom, S.F. 1992. Natural Denitrification in the Saturated Zone: A Review. *Water Resources Research*. 28: 1657 - 1668.
- Lachica, M., Recalde, L. y Esteban, E. 1965. Análisis foliar. Métodos analíticos utilizados en la Estación Experimental Zaidín. *Anales de Edafología y Agrobiología*. 24: 589 – 610.
- Luo, J. Tillman, R., Ball, P. 2000. Nitrogen loss through denitrification in a soil under pasture in New Zealand. *Soil Biology and Biochemistry*. 32: 497 - 509.
- Mathava Kumar, Jih-Gaw, L., 2010. Co-existence of anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal – strategies and issues. *J. Hazard. Mater.* 178: 1 – 9.
- Melian, R. Myrlian, N. Gouriev, A. Moraru, C. and Radstake, F. 1999. Groundwater quality and rural drinking-water supplies in the Republic of Moldova. *Hydrogeology Journal*. 7: 188 - 196.
- Moorman, T.B; T.B. Parkin; T.C. Kaspar and D.B. Jaynes. 2010. Denitrification activity, wood loss, and N₂O emissions over nine years from a wood chip bioreactor. *Ecological Engineering*. 36: 1567 – 1574.
- ODEPA-CHILE. 2010. Estudio de diagnóstico de mercado y estudio de la cadena de comercialización de fertilizantes en Chile. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA), Gobierno de Chile, Santiago. 240 p.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 2007. Nitrate and nitrite in drinking water. Ediciones OMS. Génova 27, Suiza. 21 p.
- Robertson, W.D; D.W. Blowes; C.J. Ptacek and J.A. Cherry. 2000. Long - term performance of in situ reactive barriers for nitrate remediation. *Ground Water*. 38: 689 - 695.
- Robertson, W.D; J.L. Vogan and P.S. Lombardo 2008. Nitrate removal rates in a 15-year old permeable reactive barrier treating septic system nitrate. *Ground Water Monitoring Remediation*. 28: 65 – 72.
- Robertson, W.D and L.C. Merkle. 2009. In-stream bioreactor for agricultural nitrate treatment. *Journal of Environmental Quality*. 38: 230–237.
- Robertson, P., Vitousek, P. 2009. Nitrogen in Agriculture: Balancing the Cost of an Essential Resource. *Environment and Resources*. 34: 97 – 125
- Robertson, W.D; C.J. Ptacek and S.J. Brown. 2009. Rates of nitrate and perchlorate removal in a 5-year-old wood particle reactor treating agricultural drainage. *Ground Water Monitoring Remediation*. 29: 87 – 94.

- Robertson, W.D. 2010. Nitrate removal rates in woodchip media of varying age. *Ecological Engineering*. 36: 1581 - 1587.
- Rodríguez, J. 1993. La fertilización de los cultivos. Un método racional. pp: 107-111. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía, Santiago, Chile. 237 p.
- Rodvang, S and Simpkins, W. 2001. Agricultural contaminants in Quaternary aquitards: A review of occurrence and fate in North America. *Hydrogeology Journal*. 9: 44 - 59.
- Rojas, C. 2015. Biofiltros angostos como medida de mitigación para reducir las pérdidas de nitrógeno desde campos de maíz en la zona central de Chile: balance de nitrógeno durante el primer año. Tesis Ingeniera Agrónoma y Magíster en Manejo de Suelos y Aguas. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 60 p.
- Sadzawka, A. 2006. Métodos de análisis de aguas para riego. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Serie Actas INIA N°37. Santiago, Chile. 332 p.
- Salazar, O. y Nájera, F. 2011. Contaminación de aguas por el uso de fertilizantes nitrogenados y enmiendas orgánicas. (pp. 147-152). En: Casanova M. (Ed.) Conservación de Suelos y Aguas, un compromiso con Chile, Simposio Nacional de la Ciencia del Suelo (11 y 12 de julio de 2011, Santiago, Chile). Santiago, Chile: Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. 173 p.
- Santibañez, F. y Uribe, J.M. 1993. Atlas Agroclimático de Chile: regiones sexta, séptima, octava y novena. Ministerio de Agricultura. Fondo de Investigación Agropecuaria. Corporación de Fomento de la Producción. Santiago, Chile.
- Seitzinger, S.P; R.V. Styles; E.W. Boyer; R.B. Alexander; G. Billen; R.W. Howarth; B. Mayer and N. Van Breemen. 2002. Nitrogen retention in rivers: Model development and application to watersheds in the northeastern U.S.A. *Biogeochemistry*. 57 – 58.
- Schipper, L.A and M. Vojvodic – Vukovic. 2001. Five years of nitrate removal, denitrification and carbon dynamics in a denitrification wall. *Water Research*. 35: 3473 – 3477.
- Schipper, L.A; W.D. Robertson; A.J. Gold; D.B. Jaynes, and S.C. Cameron. 2010. Denitrifying Bioreactors - An approach for reducing nitrate loads to receiving waters. *Ecological Engineering*. 36: 1532 - 1543.
- Steffen, W. 1993. Aspectos de la hidrodinámica del lago Villarrica. En III Congreso Internacional de gestión en recursos naturales. Sociedad de Vida Silvestre de Chile. Pucón, Chile.
- Strong and Fillery. 2002. Denitrification response to nitrate concentration in sandy soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 34: 945 - 954.
- Tate, R. L. 2000. Denitrification, Soil microbiology, 2nd ed. John Wiley & Sons, New York, NY. 404 – 432 p.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1992. The national water quality inventory. The 1992 report to Congress. USEPA, Washington, DC. 512 p.

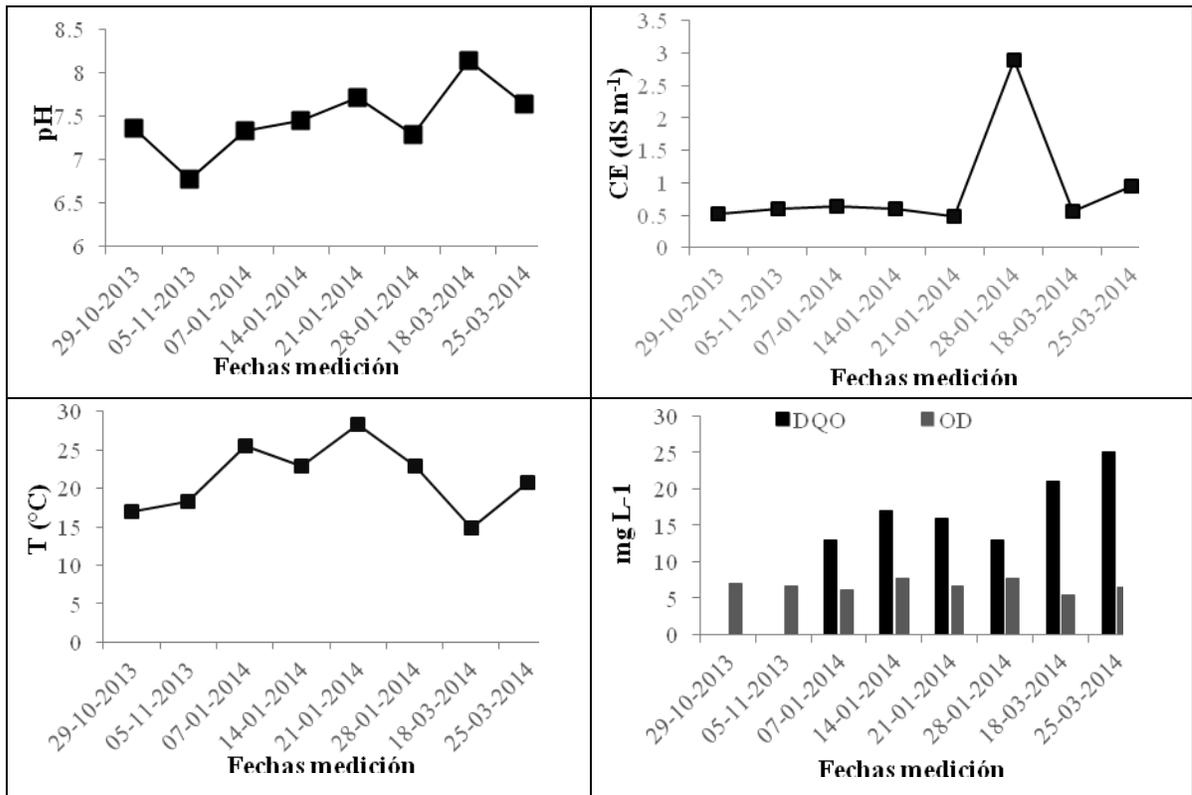
APÉNDICES

A1. Prueba de hipótesis secuenciales para concentraciones de Salida de los bioreactores.

Columna	numDF	denDF	F-value	<i>p-value</i>
Fecha	7	61	14,56	0,000
Entrada	1	61	5,84	0,040
Tratamiento	3	61	7,25	0,000
Fecha : Tratamiento	21	61	1,32	0,199

La entrada es significativa ($p < 0,05$), siendo una covariable a la concentración de $N-NO_3$ de salida de cada bioreactor, no existiendo dependencia entre los bloques.

A2. Cuadro parámetros Calidad de Agua



A3. Promedio de cargas de nitrógeno-nitrato (N-NO₃) en distintas fechas de medición: Canal de desagüe y Bioreactores.

Fecha medición	Canal de desagüe	Bioreactor ensayo	Bioreactor X
	kg N-NO ₃ d ⁻¹	g N-NO ₃ d ⁻¹	kg N-NO ₃ d ⁻¹
1	4,8	0,2	0,2
2	7,8	2,4	2,4
3	-1,2	0,4	0,4
4	0,6	0,5	0,5
5	-4,5	0,4	0,4
6	0,9	0,3	0,3
7	14,3	0,4	0,4
8	-1,9	0,6	0,6
Promedio	2,6	0,6	0,6

A4. Promedio de velocidad canal de desagüe en distintas fechas de medición

Fecha	Velocidad
	-----m s ⁻¹ -----
29-10-2013	0,16
07-01-2014	0,23
14-01-2014	0,26
28-01-2014	0,25
18-03-2014	0,18
Promedio	0,22