



INFORME FINAL

“EVALUACIÓN Y ANÁLISIS DE PRODUCTOS ANTIPARASITARIOS EN EL AMBIENTE MARINO”

Código:

Proyecto FIPA N°2014-42

Concepción, Junio 2016

Investigadores Participantes

Objetivos específicos

Jefe de proyecto

Dr. Ricardo Barra : 2 - 3 - 7

Co-Investigadores

Dr. Felipe Tucca : 1 - 2 - 5 - 7

Dr. Gonzalo Mendoza : 1 - 4 - 7

Dr. Enrique Bay-Schmith : 6 - 7

Dr. Cristian Vargas : 6 - 7

Ing. Amb. Heriberto Moya : 2 - 3 - 7

Resumen Ejecutivo

El presente Informe Final reporta los resultados de cada uno de los objetivos planteados en el proyecto titulado: “Evaluación y Análisis de Productos Antiparasitarios en el Ambiente Marino” (FIP N° 2014-42). En primera instancia, se realizó un análisis general y específico, a partir de datos bibliográficos, para cada ingrediente activo, a saber, cipermetrina, deltametrina y azametifos, para luego profundizar en su toxicidad sobre distintos organismos acuáticos marinos, poniendo énfasis en aquellos sobre los cuales estos medicamentos antiparasitarios presentan mayor toxicidad, es decir, el grupo de crustáceos marinos.

Los estudios en terreno durante las dos épocas previstas, demostraron la complejidad de la situación hidrográfica característica para cada sitio, dominadas por las corrientes de marea y vientos, estas condiciones particulares son las que determinaron la dinámica de los productos en el sistema marino. Durante el presente estudio, no fueron detectados residuos de antiparasitarios tales como deltametrina, cipermetrina y azametifos en muestras de agua de mar, no obstante, mediante el uso de muestreadores pasivos en campo pudimos detectar concentraciones para los antiparasitarios cipermetrina y deltametrina, considerando ciertos parámetros de calibración y tiempos de exposición. El rango registrado por muestreadores pasivos para los piretroides cipermetrina y deltametrina estuvieron entre 0,33 a 13,6 ng L⁻¹ y 0,05 a 4,28 ng L⁻¹, respectivamente. Por otra parte, en muestras de sedimentos fueron cuantificados niveles de piretroides en el orden de ng/g (ppb). La concentración máxima detectada en sedimento para cipermetrina fue de 1,48 ng g⁻¹ (Centro Chillidque) bajo balsas jaulas, mientras que para deltametrina fue de 4,67 ng g⁻¹ (Centro Quinchao) a 100 m de distancia. Sin embargo, residuos del antiparasitario azametifos no fue posible detectarlos en muestras de agua y sedimento durante las diferentes campañas, encontrándose bajo los límites de detección analítica (0,5 mg L⁻¹). Concentraciones de antiparasitarios en muestras de chorito localizados cerca de los centros de cultivo en este estudio solamente fueron detectados en un centro con aplicación de deltametrina durante la campaña primavera-verano (Centro Quinchao), oscilando entre 0,2 y 10,6 ng g⁻¹, mientras que para los otros centros de cultivo el método no permitió detectar residuos de medicamentos antiparasitarios.

En relación a la toxicidad en organismos no blanco, los valores reportados en este estudio se encuentran en los órdenes de magnitud que se han observado para organismos similares en otras latitudes, la excepción continúan siendo los crustáceos, quienes resultan ser los organismos más sensibles a la acción de los antiparasitarios, en particular a piretroides sintéticos. Las larvas del bivalvo *Mytilus chilensis*, no mostró sensibilidad a los compuestos antiparasitarios comerciales y

puros. No obstante, respuestas fisiológicas si fueron observadas en larvas de *M. chilensis*, afectando la tasa de ingestión y aclaramiento de estos organismos a partir de una concentración de $1,56 \mu\text{g L}^{-1}$, para cipermetrina y azametifos como productos puros, pero no en sus formulaciones comerciales.

Executive summary

The Final report documents the results of each objective outlined in the project named "Evaluation and Analysis of antiparasitic products in the marine environment" (FIP No. 2014-42). First, it was done a general and specific bibliographic analysis for each active ingredient: cypermethrin, deltamethrin and azamethiphos in terms to characterize their toxicity on various marine aquatic organisms, emphasizing on those on which these antiparasitic had higher toxicity, i.e. the marine crustaceans group.

Field studies have been conducted in two planned periods, which they showed that complex hydrographic situation for each site was dominated by tidal currents and wind effects. For the studied salmon farming sites, not measurable concentrations of deltamethrin, cypermethrin and azamethiphos were detected in seawater samples, however, by using passive sampling devices, in the field, it was possible to estimate concentrations of cypermethrin and deltamethrin in ranges between 0.33-13.6 ng L⁻¹ and 0.05-4.28 ng L⁻¹, respectively. In sediment samples analyzed, concentrations reached levels about ng/g (ppb). The maximum measurable concentrations in sediment for cypermethrin was 1,48 ng g⁻¹ (Chillidque salmon farm) under salmon cages, while that for Deltamethrin was 4,67 ng g⁻¹ (Puerto Haro salmon farm) to 100 m around salmon cages. For azametiphos occurrence in water and sediment samples, where they were below detection limits (0.5 mg L⁻¹). Concentrations reported in mussels sampled near the salmon farms in the field were only detected for deltamethrin during spring-summer campaign (0.2-10.6 ng g⁻¹). For other salmon farms antiparasitic products were not detected.

In relation to the non-target organisms, these toxicity values reported in the study were in the same order of magnitude for similar organisms analyzed in others latitudes, with the except crustaceans, which they still turn out to be the most sensitive organism to the action of the antiparasitics, in particular, pyrethroids. Mollusk larvae of *Mytilus chilensis* does not appear particularly sensitive to the antiparasitic tested, both in pure and commercial formulations, however physiological responses such a ingestion and clearance rates were affected starting at a concentration of 1.56 µg L⁻¹, for cypermethrin and azametiphos as pure compounds, but not as commercial formulations.

ÍNDICE GENERAL

1. OBJETIVOS	14
1.1. OBJETIVO GENERAL	14
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2. ANTECEDENTES	16
2.1. PIRETROIDES SINTÉTICOS	16
2.2. ORGANOFOSFORADO.....	18
3. METODOLOGÍA DE TRABAJO	20
3.1. OBJETIVO ESPECÍFICO 1	20
3.1.1. <i>Recopilación bibliográfica de efectos en flora y fauna</i>	20
3.1.2. <i>Antecedentes en el área de estudio</i>	20
3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO 2.....	21
3.2.1. <i>Sitios de estudio</i>	21
3.2.2. <i>Diseño de muestreo en agua</i>	22
3.2.3. <i>Diseño de muestreo en sedimento</i>	25
3.2.4. <i>Diseño de muestreo en Biota</i>	26
3.3. OBJETIVO ESPECÍFICO 3.....	27
3.3.1. <i>Muestreo de antiparasitarios en agua y sedimento</i>	27
3.4. OBJETIVO ESPECÍFICO 4.....	32
3.4.1. <i>Correntometría Lagrangiana</i>	32
3.5. OBJETIVO ESPECÍFICO 5.....	34
3.5.1. <i>Biota acuática</i>	34
3.6. OBJETIVO ESPECÍFICO 6.....	36
3.6.1. <i>Bioensayos con el bivalvo <i>Mytilus chilensis</i></i>	36
3.6.2. <i>Experimentos/bioensayos de toxicidad crónica de antiparasitarios sobre el metabolismo de larvas véliger en <i>Mytilus chilensis</i></i>	37
3.7. OBJETIVO ESPECÍFICO 7.....	39
3.7.1. <i>Elaboración base de datos</i>	39
4. RESULTADOS	40
4.1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE EFECTOS EN ORGANISMOS MARINOS.....	40
4.1.1. <i>Cipermetrina</i>	40
4.1.2. <i>Deltametrina</i>	44
4.1.3. <i>Azametifos</i>	47
4.2. RECOPIACIÓN DE ANTECEDENTES PARA EL ÁREA DE ESTUDIO.	49
4.2.1. <i>Piretroides (otros antecedentes)</i>	58
4.2.2. <i>Azametifos (otros antecedentes)</i>	58

4.3. LOCALIZACIÓN Y ANTECEDENTES DE CENTROS DE CULTIVO	60
4.3.1. <i>Primera campaña (Primavera-Verano)</i>	60
4.3.2. <i>Segunda campaña (Otoño-Invierno)</i>	65
4.4. MUESTREADORES PASIVOS.....	70
4.4.1 <i>Calibración</i>	70
4.4.2. <i>Concentración de antiparasitario en muestreadores pasivos</i>	71
4.5. DETECCIÓN DE ANTIPARASITARIOS EN EL AMBIENTE.....	73
4.5.1. <i>Piretroides</i>	73
4.5.1. <i>Azametifos</i>	75
4.6. VARIABLES AMBIENTALES	77
4.7. DERIVADORES DE CORRIENTE LAGRANGIANA	83
4.7.1. <i>Campaña primavera-verano</i>	83
4.7.2. <i>Campaña otoño-invierno</i>	93
4.8. BIOTA MARINA	99
4.8.1. <i>Fitoplancton</i>	99
4.8.2. <i>Bentos</i>	111
4.9. BIOENSAYOS DE TOXICIDAD EN LARVAS DE MITÍLIDOS.....	121
4.9.1. <i>Mortalidad y fijación de la larva premetamórfica</i>	121
4.9.2. <i>Inhibición de la fecundación</i>	127
4.9.3. <i>Inhibición en el desarrollo larval</i>	132
4.9.4. <i>Tasa de aclaramiento e ingestión de larvas véliger de M. chilensis</i> ...	137
5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	145
6. CONCLUSIONES	149
7. REFERENCIAS.....	152
8. ANEXOS	158
ANEXO I (OBJETIVO ESPECÍFICO 1)	159
ANEXO II (OBJETIVO ESPECÍFICO 2)	162
ANEXO III (OBJETIVO ESPECÍFICO 3)	165
ANEXO IV (OBJETIVO ESPECÍFICO 4).....	168
ANEXO V (OBJETIVO ESPECÍFICO 5).....	170
ANEXO VI (OBJETIVO ESPECÍFICO 6).....	171

FIGURAS

FIGURA 1. UBICACIÓN DE CENTROS DE CULTIVO CON APLICACIÓN DE ANTIPARASITARIOS DURANTE LAS CAMPAÑAS PRIMAVERA-VERANO (AZUL) Y OTOÑO-INVIERNO (ROJO).....	21
FIGURA 2. DISEÑO DE MUESTREO UTILIZADO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE AGUA.	23
FIGURA 3. DESPLIEGUE DE MUESTREADORES PASIVOS EN CAMPO.....	25
FIGURA 4. DISEÑO DE MUESTREO UTILIZADO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE SEDIMENTO.	26
FIGURA 5. ESQUEMA DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE PIRETROIDES EN AGUA.	28
FIGURA 6. ESQUEMA DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE PIRETROIDES EN SEDIMENTO.	28
FIGURA 7. ESQUEMA DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE PIRETROIDES EN ORGANISMOS.	28
FIGURA 8. ESQUEMA DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE AZAMETIFOS EN AGUA.	29
FIGURA 9. ESQUEMA DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE AZAMETIFOS EN SEDIMENTO Y ORGANISMOS.....	30
FIGURA 10. GPS-DG100 DATA LOGGER UTILIZADOS EN LA EXPERIENCIA DE DERIVADORES.	33
FIGURA 11. ANEMÓMETRO UTILIZADO PARA LA MEDICIÓN DE VIENTOS EN CADA ZONA DE ESTUDIO.	33
FIGURA 12. DISEÑO EXPERIMENTAL DE BIOENSAYOS TOXICIDAD CRÓNICA DE PIRETROIDES SOBRE LAS TASAS DE ACLARAMIENTO E INGESTIÓN DE LARVAS VÉLIGER DE <i>MYTILUS CHILENSIS</i>	38
FIGURA 13. DATOS DE TOXICIDAD AGUDA EN ESCALA LOGARÍTMICA PARA CIPERMETRINA ($\mu\text{g/L}$) LUEGO DE 96 HORAS DE EXPOSICIÓN EN DIVERSOS ORGANISMOS MARINOS. DIFERENTES COLORES REPRESENTAN DIFERENTES TAXA. DETALLE DE LA INFORMACIÓN SE ENCUENTRA EN ANEXO I.	43
FIGURA 14. DATOS DE TOXICIDAD AGUDA EN ESCALA LOGARÍTMICA PARA DELTAMETRINA ($\mu\text{g/L}$) LUEGO DE 96 HORAS DE EXPOSICIÓN EN DIVERSOS ORGANISMOS MARINOS. DIFERENTES COLORES REPRESENTAN DIFERENTES TAXA. DETALLE DE LA INFORMACIÓN SE ENCUENTRA EN ANEXO I.	45
FIGURA 15. DATOS DE TOXICIDAD AGUDA EN ESCALA LOGARÍTMICA PARA AZAMETIFOS ($\mu\text{g/L}$) A DIFERENTES TIEMPOS DE EXPOSICIÓN (EN PARÉNTESIS). DIFERENTES COLORES REPRESENTAN DIFERENTES TAXA. DETALLE DE LA INFORMACIÓN SE ENCUENTRA EN ANEXO I.....	48
FIGURA 16. DISTRIBUCIÓN VERTICAL DE A) TEMPERATURA, B) SALINIDAD Y C) OXÍGENO DISUELTO EN LA SECCIÓN SENO RELONCAVÍ, GOLFO DE ANCUD, GOLFO CORCOVADO Y BOCA DEL GUAFO. CRUCERO CIMAR 10 FIRDOS, ETAPA DE INVIERNO 2004.	54
FIGURA 17. DISTRIBUCIÓN VERTICAL DE A) TEMPERATURA, B) SALINIDAD Y C) OXÍGENO DISUELTO EN LA SECCIÓN SENO RELONCAVÍ, GOLFO DE ANCUD, GOLFO CORCOVADO Y BOCA DEL GUAFO. CIMAR 10 FIRDOS, ETAPA DE PRIMAVERA 2004.	55
FIGURA 18. ÁREA DE MUESTREO PARA CENTRO DE CULTIVO QUINCHAO. C3 CORRESPONDE A LA IDENTIFICACIÓN DEL CENTRO; LOS NÚMEROS 100 Y 500 REPRESENTAN LA DISTANCIA APROXIMADA AL CENTRO DE CULTIVO, Y LAS LETRAS A, B, C, D LA ORIENTACIÓN EN LA TOMA DE MUESTRAS.....	61
FIGURA 19. ÁREA DE MUESTREO PARA CENTRO DE CULTIVO CHILLIDQUE. C2 CORRESPONDE A LA IDENTIFICACIÓN DEL CENTRO; LOS NÚMEROS 100 Y 500 REPRESENTAN LA DISTANCIA APROXIMADA AL CENTRO DE CULTIVO, Y LAS LETRAS A, B, C, D LA ORIENTACIÓN EN LA TOMA DE MUESTRAS.....	62
FIGURA 20. ÁREA DE MUESTREO PARA CENTRO DE CULTIVO LILLE 2. C1 CORRESPONDE A LA IDENTIFICACIÓN DEL CENTRO; LOS NÚMEROS 100 Y 500 REPRESENTAN LA DISTANCIA APROXIMADA AL CENTRO DE CULTIVO, Y LAS LETRAS A, B, C, D LA ORIENTACIÓN EN LA TOMA DE MUESTRAS.....	64
FIGURA 21. ÁREA DE MUESTREO PARA CENTRO DE CULTIVO PUERTO HARO. C3 CORRESPONDE A LA IDENTIFICACIÓN DEL CENTRO; LOS NÚMEROS 100 Y 500 REPRESENTAN LA DISTANCIA APROXIMADA AL CENTRO DE CULTIVO, Y LAS LETRAS A, B, C, D LA ORIENTACIÓN EN LA TOMA DE MUESTRAS.....	66
FIGURA 22. ÁREA DE MUESTREO PARA CENTRO DE CULTIVO PUNTA LUCU. C1 CORRESPONDE A LA IDENTIFICACIÓN DEL CENTRO; LOS NÚMEROS 100 Y 500 REPRESENTAN LA DISTANCIA APROXIMADA AL CENTRO DE CULTIVO, Y LAS LETRAS A, B, C, D LA ORIENTACIÓN EN LA TOMA DE MUESTRAS.....	67

FIGURA 23. ÁREA DE MUESTREO PARA CENTRO DE CULTIVO PASO QUENU. C1 CORRESPONDE A LA IDENTIFICACIÓN DEL CENTRO; LOS NÚMEROS 100 Y 500 REPRESENTAN LA DISTANCIA APROXIMADA AL CENTRO DE CULTIVO, Y LAS LETRAS A, B, C, D LA ORIENTACIÓN EN LA TOMA DE MUESTRAS.....	69
FIGURA 24. CORRELACIÓN ENTRE EL COEFICIENTE DE REPARTO OCTANOL-AGUA (LOG KOW) Y EL COEFICIENTE DE REPARTO EVA-AGUA (LOG KEVA-W) PARA CADA UNO DE LOS COMPUESTOS DE REFERENCIA UTILIZADOS EN LA CALIBRACIÓN DEL POLÍMERO EVA.	70
FIGURA 25. CONCENTRACIÓN PROMEDIO (\pm ERROR STD) DE MEDICAMENTOS ANTIPARASITARIOS DETECTADA POR EL DISPOSITIVOS DE MUESTREO PASIVO EVA.	72
FIGURA 26. CONCENTRACIÓN PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTANDAR (NG/G) DE CIPERMETRINA (A) Y DELTAMETRINA (B) EN LOS DIFERENTES CENTROS DE CULTIVOS MUESTREADOS DURANTES LAS CAMPAÑAS PRIMVERA-VERANO Y OTOÑO-INVIERNO. GRIS: SEDIMENTO; VERDE: CHORITOS.	74
FIGURA 27. CONCENTRACIÓN PROMEDIO (\pm DS, NG/G) DE PIRETROIDES POR CADA TIEMPO Y DISTANCIA MUESTREADA DURANTE LAS CAMPAÑAS PRIMAVERA-VERANO (A Y B) Y OTOÑO-INVIERNO (C Y D). LEYENDA: C2, C3: IDENTIFICACIÓN DEL CENTRO DE CULTIVO; 0, 100, 500: DISTANCIAS; -1, 1: PRETRATAMIENTO Y POSTRATAMIENTO, RESPECTIVAMENTE; A, B, C, D: ORIENTACIÓN EN LA TOA DE MUESTRA (VER PUNTO 4.3).....	75
FIGURA 28. DERIVADORES DURANTE EL PERIODO LLENANTE DE ESTE ESTUDIO (NÚMERO 1, 2 INDICA NÚMERO DE LANCES REALIZADOS).	86
FIGURA 29. DERIVADORES DURANTE EL PERIODO LLENANTE DE ESTE ESTUDIO (NÚMERO 1, 2 INDICA NÚMERO DE LANCES REALIZADOS).	86
FIGURA 30. DERIVADORES DURANTE EL PERIODO VACIANTE DE ESTE ESTUDIO.	87
FIGURA 31. DERIVADORES DURANTE EL PERIODO LLENANTE DE ESTE ESTUDIO (NÚMERO 1, 2 INDICA NÚMERO DE LANCES REALIZADOS).	90
FIGURA 32. DERIVADORES DURANTE EL PERIODO LLENANTE DE ESTE ESTUDIO (NÚMERO 1, 2 INDICA NÚMERO DE LANCES REALIZADOS).	90
FIGURA 33. DERIVADORES DURANTE EL PERIODO LLENANTE DE ESTE ESTUDIO (NÚMERO 1, 2 Y 3 INDICA NÚMERO DE LANCES REALIZADOS).....	91
FIGURA 34. DERIVADORES DURANTE EL PERIODO LLENANTE DE ESTE ESTUDIO.	92
FIGURA 35. DERIVADORES DURANTE EL DÍA 10 DE ABRIL DE 2015, PARA EL SECTOR PUERTO HARO.....	95
FIGURA 36. DERIVADORES DURANTE EL DÍA 23 DE ABRIL DE 2015, PARA EL SECTOR PUNTA LUCU.....	96
FIGURA 37. DERIVADORES DURANTE EL DÍA 11 DE JULIO DE 2015, PARA EL SECTOR PASO QUENU.....	97
FIGURA 38. COMPOSICIÓN ESPACIAL DE LA DIVERSIDAD DE SHANNON (H') DEL FITOPLANCTON EN PRE Y POSTRATAMIENTO.	100
FIGURA 39. ANÁLISIS MDS DE ESPECIES FITOPLANCTÓNICAS IDENTIFICADAS EN LOS DIFERENTES CENTROS DE CULTIVOS MUESTREADOS EN LA PRIMERA CAMPAÑA.	101
FIGURA 40. ANÁLISIS MDS DE FITOPLANCTON DURANTE PRE Y POSTRATAMIENTO CON ANTIPARASITARIOS. A) CENTRO LILLE 2 (AZAMETIFOS); B) CENTRO CHILLIDQUE (CIPERMETRINA) Y C) CENTRO QUINCHAO (DELTAMETRINA).....	102
FIGURA 41. NÚMERO DE ESPECIES FITOPLANCTÓNICAS IDENTIFICADAS DURANTE LA PRIMERA CAMPAÑA DE MUESTREO.....	103
FIGURA 42. NÚMERO DE INDIVIDUOS (FITOPLANCTON) POR GRUPO TAXONÓMICO EN LAS DIFERENTES ÁREAS DONDE SE LOCALIZARON LOS CENTROS DE CULTIVO DE LA PRIMERA CAMPAÑA.	104
FIGURA 43. COMPOSICIÓN ESPACIAL DE LA DIVERSIDAD DE SHANNON (H') DEL FITOPLANCTON EN PRE Y POSTRATAMIENTO.	106
FIGURA 44. ANÁLISIS MDS DE ESPECIES FITOPLANCTÓNICAS IDENTIFICADAS EN LOS DIFERENTES CENTROS DE CULTIVOS MESTREADOS EN LA SEGUNDA CAMPAÑA.	107

FIGURA 45. ANÁLISIS MDS DE FITOPLANCTON DURANTE PRE Y POSTRATAMIENTO CON ANTIPARASITARIOS. A) CENTRO PUNTA LUCU (AZAMETIFOS); B) CENTRO PASO QUENU (CIPERMETRINA) Y C) CENTRO PUERTO HARO (DELTAMETRINA).....	108
FIGURA 46. NÚMERO DE ESPECIES FITOPLANCTÓNICAS IDENTIFICADAS DURANTE LA SEGUNDA CAMPAÑA DE MUESTREO.....	109
FIGURA 47. NÚMERO DE INDIVIDUOS (FITOPLANCTON) POR GRUPO TAXONÓMICO EN LAS DIFERENTES ÁREAS DONDE SE LOCALIZARON LOS CENTROS DE CULTIVO DE LA SEGUNDA CAMPAÑA.	110
FIGURA 48. COMPOSICIÓN ESPACIAL DE LA DIVERSIDAD DE SHANNON (H') DEL FITOPLANCTON EN PRE Y POSTRATAMIENTO.	112
FIGURA 49. ANÁLISIS MDS DE ESPECIES BENTÓNICAS IDENTIFICADAS EN LOS DIFERENTES CENTROS DE CULTIVOS MESTREADOS EN LA PRIMERA CAMPAÑA.	113
FIGURA 50. NÚMERO DE ESPECIES BENTÓNICAS IDENTIFICADAS DURANTE LA PRIMERA CAMPAÑA DE MUESTREO.....	114
FIGURA 51. NÚMERO DE INDIVIDUOS (BENTOS) POR GRUPO TAXONÓMICO EN LAS DIFERENTES ÁREAS DONDE SE LOCALIZARON LOS CENTROS DE CULTIVO DE LA PRIMERA CAMPAÑA.....	115
FIGURA 52. COMPOSICIÓN ESPACIAL DE LA DIVERSIDAD DE SHANNON (H') DEL FITOPLANCTON EN PRE Y POSTRATAMIENTO.	117
FIGURA 53. ANÁLISIS MDS DE ESPECIES BENTÓNICAS IDENTIFICADAS EN LOS DIFERENTES CENTROS DE CULTIVOS MESTREADOS EN LA SEGUNDA CAMPAÑA.	118
FIGURA 54. NÚMERO DE ESPECIES BENTÓNICAS IDENTIFICADAS DURANTE LA SEGUNDA CAMPAÑA DE MUESTREO.....	119
FIGURA 55. NÚMERO DE INDIVIDUOS (BENTOS) POR GRUPO TAXONÓMICO EN LAS DIFERENTES ÁREAS DONDE SE LOCALIZARON LOS CENTROS DE CULTIVO DE LA SEGUNDA CAMPAÑA.....	120
FIGURA 56. A) TASA DE ACLARAMIENTO E INGESTIÓN DE LARVAS VÉLIGER DE <i>M. CHILENSIS</i> A CINCO CONCENTRACIONES DE CIPERMETRINA (PRODUCTO PURO), UTILIZANDO COMO ALIMENTO LA HAPTÓFITA <i>ISOCHRYSIS GALBANA</i> ($\sim 10 \mu\text{G CHL L}^{-1}$). B) TASAS DE INGESTIÓN SOBRE CUATRO GRUPOS FITOPLANCTÓNICOS UTILIZANDO LA OFERTA NATURAL DE ALIMENTO.....	138
FIGURA 57. A) TASA DE ACLARAMIENTO E INGESTIÓN DE LARVAS VÉLIGER DE <i>M. CHILENSIS</i> A CINCO CONCENTRACIONES DE CIPERMETRINA (PRODUCTO COMERCIAL), UTILIZANDO COMO ALIMENTO LA HAPTÓFITA <i>ISOCHRYSIS GALBANA</i> ($\sim 10 \mu\text{G CHL L}^{-1}$). B) TASAS DE INGESTIÓN SOBRE CUATRO GRUPOS FITOPLANCTÓNICOS UTILIZANDO LA OFERTA NATURAL DE ALIMENTO.....	139
FIGURA 58. A) TASA DE ACLARAMIENTO E INGESTIÓN DE LARVAS VELIGER DE <i>M. CHILENSIS</i> A CINCO CONCENTRACIONES DE AZAMETIFOS (PRODUCTO PURO), UTILIZANDO COMO ALIMENTO LA HAPTÓFITA <i>ISOCHRYSIS GALBANA</i> ($\sim 10 \mu\text{G CHL L}^{-1}$). B) TASAS DE INGESTIÓN SOBRE CUATRO GRUPOS FITOPLANCTÓNICOS UTILIZANDO LA OFERTA NATURAL DE ALIMENTO.....	141
FIGURA 59. A) TASA DE ACLARAMIENTO E INGESTIÓN DE LARVAS VELIGER DE <i>M. CHILENSIS</i> A SEIS CONCENTRACIONES DE AZAMETIFOS (PRODUCTO COMERCIAL), UTILIZANDO COMO ALIMENTO LA HAPTÓFITA <i>ISOCHRYSIS GALBANA</i> ($\sim 10 \mu\text{G CHL L}^{-1}$). B) TASAS DE INGESTIÓN SOBRE CUATRO GRUPOS FITOPLANCTÓNICOS UTILIZANDO LA OFERTA NATURAL DE ALIMENTO.....	142
FIGURA 60. A) TASA DE ACLARAMIENTO E INGESTIÓN DE LARVAS VELIGER DE <i>M. CHILENSIS</i> A CINCO CONCENTRACIONES DE DELTAMETRINA (PRODUCTO PURO), UTILIZANDO COMO ALIMENTO LA HAPTÓFITA <i>ISOCHRYSIS GALBANA</i> ($\sim 10 \mu\text{G CHL L}^{-1}$). B) TASAS DE INGESTIÓN SOBRE CUATRO GRUPOS FITOPLANCTÓNICOS UTILIZANDO LA OFERTA NATURAL DE ALIMENTO.....	143
FIGURA 61. A) TASA DE ACLARAMIENTO E INGESTIÓN DE LARVAS VELIGER DE <i>M. CHILENSIS</i> A SEIS CONCENTRACIONES DE DELTAMETRINA (PRODUCTO COMERCIAL), UTILIZANDO COMO ALIMENTO LA HAPTÓFITA <i>ISOCHRYSIS GALBANA</i> ($\sim 10 \mu\text{G CHL L}^{-1}$). B) TASAS DE INGESTIÓN SOBRE CUATRO GRUPOS FITOPLANCTÓNICOS UTILIZANDO LA OFERTA NATURAL DE ALIMENTO.....	144

TABLAS

TABLA 1. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS CRÍTICAS DE PIRETROIDES SINTÉTICOS*.....	17
TABLA 2. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS CRÍTICAS DEL ORGANOFOSFORADO AZAMETIFOS*.....	18
TABLA 3. DATOS DE TOXICIDAD AGUDA (CL50 Y CE50) PARA LAS FORMULACIONES COMERCIALES ALPHA MAX® Y DECIS® REPORTADOS EN CRUSTÁCEOS MARINOS.....	46
TABLA 4. DATOS DE TOXICIDAD AGUDA (CL50 Y CE50) PARA LA FORMULACIÓN COMERCIAL SALMOSAN® REPORTADA EN LITERATURA.....	49
TABLA 5. CARACTERÍSTICAS E INFORMACIÓN DETALLADA PARA CADA CENTRO DE CULTIVO MUESTREADO DURANTE LA PRIMERA CAMPAÑA PRIMAVERA VERANO.....	60
TABLA 6. COORDENADAS GEOGRÁFICAS PARA CADA PUNTO DE MUESTREO EN EL CENTRO DE CULTIVO CON APLICACIÓN DEL ANTIPARASITARIO DELTAMETRINA, CAMPAÑA PRIMAVERA-VERANO.....	62
TABLA 7. COORDENADAS GEOGRÁFICAS PARA CADA PUNTO DE MUESTREO EN EL CENTRO DE CULTIVO CON APLICACIÓN DEL ANTIPARASITARIO CIPERMETRINA, CAMPAÑA PRIMAVERA-VERANO.....	63
TABLA 8. COORDENADAS GEOGRÁFICAS PARA CADA PUNTO DE MUESTREO EN EL CENTRO DE CULTIVO CON APLICACIÓN DEL ANTIPARASITARIO AZAMETIFOS, CAMPAÑA PRIMAVERA-VERANO.....	64
TABLA 9. CARACTERÍSTICAS E INFORMACIÓN DETALLADA PARA CADA CENTRO DE CULTIVO MUESTREADO DURANTE LA SEGUNDA CAMPAÑA OTOÑO-INVIerno.....	65
TABLA 10. COORDENADAS GEOGRÁFICAS PARA CADA PUNTO DE MUESTREO EN EL CENTRO DE CULTIVO CON APLICACIÓN DEL ANTIPARASITARIO DELTAMETRINA, CAMPAÑA OTOÑO-INVIerno.....	67
TABLA 11. COORDENADAS GEOGRÁFICAS PARA CADA PUNTO DE MUESTREO EN EL CENTRO DE CULTIVO CON APLICACIÓN DEL ANTIPARASITARIO AZAMETIFOS, CAMPAÑA OTOÑO-INVIerno.....	68
TABLA 12. COORDENADAS GEOGRÁFICAS PARA CADA PUNTO DE MUESTREO EN EL CENTRO DE CULTIVO CON APLICACIÓN DEL ANTIPARASITARIO CIPERMETRINA, CAMPAÑA OTOÑO-INVIerno.....	69
TABLA 13. VARIABLES AMBIENTALES CORRESPONDIENTES A LAS 3 CENTRO DE CULTIVO CON TRATAMIENTO DE ANTIPARASITARIOS EN CAMPAÑA PRIMAVERA-VERANO.....	78
TABLA 14. VARIABLES AMBIENTALES CORRESPONDIENTES A LAS 3 CENTRO DE CULTIVO CON TRATAMIENTO DE ANTIPARASITARIOS EN CAMPAÑA OTOÑO-INVIerno.....	79
TABLA 15. GRANULOMETRÍA EN SEDIMENTOS COLECTADOS DURANTE LOS PERIODOS DE MUESTREO PRIMAVERA-VERANO (CAMPAÑA 1) Y OTOÑO-INVIerno (CAMPAÑA 2).....	80
TABLA 16. FACIES TEXTURALES EN SEDIMENTOS COLECTADOS DURANTE LOS PERIODOS DE MUESTREO PRIMAVERA-VERANO (CAMPAÑA 1) Y OTOÑO-INVIerno (CAMPAÑA 2).....	81
TABLA 17. PORCENTAJE DE MATERIA ORGÁNICA EN SEDIMENTOS COLECTADOS DURANTE LOS PERIODOS DE MUESTREO PRIMAVERA-VERANO (CAMPAÑA 1) Y OTOÑO-INVIerno (CAMPAÑA 2).....	82
TABLA 18. RESUMEN DE LAS FECHAS Y HORAS DE INSTALACIÓN DE LOS DERIVADORES PARA LA PRIMERA FECHA DE ESTUDIO.....	83
TABLA 19. RESUMEN DE LAS FECHAS Y HORAS DE INSTALACIÓN DE LOS DERIVADORES PARA LA SEGUNDA FECHA DE ESTUDIO EN CENTRO LILLE 2, QUELLÓN.....	84
TABLA 20. RESULTADOS DEL T: TIEMPO TRANSCURRIDO ENTRE INICIO Y FINAL, LR: DISTANCIA RESIDUAL, MR: MAGNITUD RESIDUAL, DR: DIRECCIÓN RESIDUAL, CC: CONSTANCIA DE LA CORRIENTE, PARA CADA DERIVADOR SUPERFICIAL Y DE FONDO INSTALADOS EN LA ZONA DE QUINCHAO, ENTRE LOS DÍAS 8 Y 10 DE NOVIEMBRE DE 2014.....	85
TABLA 21. RESULTADOS DEL T: TIEMPO TRANSCURRIDO ENTRE INICIO Y FINAL, LR: DISTANCIA RESIDUAL, MR: MAGNITUD RESIDUAL, DR: DIRECCIÓN RESIDUAL, CONSTANCIA DE LA CORRIENTE, PARA CADA DERIVADOR SUPERFICIAL Y DE FONDO INSTALADOS EN LA ZONA DE CHILLIDQUE, ENTRE LOS DÍAS 9 Y 12 DE NOVIEMBRE DE 2014.....	89
TABLA 22. RESULTADOS DEL T: TIEMPO TRANSCURRIDO ENTRE INICIO Y FINAL, LR: DISTANCIA RESIDUAL, MR: MAGNITUD RESIDUAL, DR: DIRECCIÓN RESIDUAL, CONSTANCIA DE LA CORRIENTE, PARA CADA	

DERIVADOR SUPERFICIAL Y DE FONDO INSTALADOS EN LA ZONA DE QUELLÓN, PARA EL DÍA 16 DE DICIEMBRE DE 2014.	92
TABLA 23. RESUMEN DE LAS FECHAS Y HORAS DE INSTALACIÓN DE LOS DERIVADORES PARA LAS PRIMERAS FECHAS DE ESTUDIO, PARA ESTE PERIODO.	93
TABLA 24. RESUMEN DE LAS FECHAS Y HORAS DE INSTALACIÓN DE LOS DERIVADORES PARA LA SEGUNDA FECHA DE ESTUDIO.....	94
TABLA 25. ALTURAS DE MAREA PARA LOS DÍAS DE ESTUDIO, OBTENIDAS DESDE TABLA DE MAREAS DEL SHOA, PARA PUERTO PATRÓN PUERTO MONTT.	94
TABLA 26. RESULTADOS DEL TIEMPO (T), DISTANCIA (D), RAPIDEZ (R) Y DIRECCIÓN (D) RECORRIDA POR LOS DERIVADORES SUPERFICIALES Y DE MEDIA AGUA PARA LOS TRES SECTORES DE ESTUDIO.....	98
TABLA 27. PARÁMETROS COMUNITARIOS POR ESTACIÓN: ÍNDICE BIODIVERSIDAD DE MARGALEF E ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SHANNON (H') PARA PRE TRATAMIENTO Y POS TRATAMIENTO.....	99
TABLA 28. PARÁMETROS COMUNITARIOS POR ESTACIÓN: ÍNDICE BIODIVERSIDAD DE MARGALEF E ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SHANNON (H') PARA PRE TRATAMIENTO Y POS TRATAMIENTO.....	105
TABLA 29. PARÁMETROS COMUNITARIOS POR ESTACIÓN: ÍNDICE BIODIVERSIDAD DE MARGALEF E ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SHANNON (H') PARA PRE TRATAMIENTO Y POS TRATAMIENTO.....	111
TABLA 30. PARÁMETROS COMUNITARIOS POR ESTACIÓN: ÍNDICE BIODIVERSIDAD DE MARGALEF E ÍNDICE DE DIVERSIDAD DE SHANNON (H') PARA PRE TRATAMIENTO Y POS TRATAMIENTO.....	116
TABLA 31. NÚMERO DE LARVAS PREMETAMÓRFICAS DE <i>M. CHILENSIS</i> MUERTAS Y FIJADAS AL ENVASE DESPUÉS DE UNA EXPOSICIÓN A CIPERMETRINA POR 48 HORAS.	121
TABLA 32. NÚMERO DE LARVAS PREMETAMÓRFICAS DE <i>M. CHILENSIS</i> MUERTAS Y FIJADAS AL ENVASE DESPUÉS DE UNA EXPOSICIÓN A CIPERMETRINA FORMULACIÓN COMERCIAL POR 48 HORAS.....	122
TABLA 33. NÚMERO DE LARVAS PREMETAMÓRFICAS DE <i>M. CHILENSIS</i> MUERTAS Y FIJADAS AL ENVASE DESPUÉS DE UNA EXPOSICIÓN A DELTAMETRINA POR 48 HORAS.....	123
TABLA 34. NÚMERO DE LARVAS PREMETAMÓRFICAS DE <i>M. CHILENSIS</i> MUERTAS Y FIJADAS AL ENVASE DESPUÉS DE UNA EXPOSICIÓN A DELTAMETRINA FORMULACIÓN COMERCIAL POR 48 HORAS.	124
TABLA 35. NÚMERO DE LARVAS PREMETAMÓRFICAS DE <i>M. CHILENSIS</i> MUERTAS Y FIJADAS AL ENVASE DESPUÉS DE UNA EXPOSICIÓN A AZAMETIFOS POR 48 HORAS.	125
TABLA 36. NÚMERO DE LARVAS PREMETAMÓRFICAS DE <i>M. CHILENSIS</i> MUERTAS Y FIJADAS AL ENVASE DESPUÉS DE UNA EXPOSICIÓN A AZAMETIFOS FORMULACIÓN COMERCIAL POR 48 HORAS.	126
TABLA 37 NÚMERO DE ÓVULOS FECUNDADOS Y NO FECUNDADOS DE <i>M. CHILENSIS</i> EXPUESTOS A CIPERMETRINA PURA.	127
TABLA 38. NÚMERO (EN BASE A 100 REGISTROS POR RÉPLICA) DE ÓVULOS FECUNDADOS Y NO FECUNDADOS DE <i>M. CHILENSIS</i> EXPUESTOS A CIPERMETRINA.	128
TABLA 39. NÚMERO DE ÓVULOS FECUNDADOS Y NO FECUNDADOS DE <i>M. CHILENSIS</i> EXPUESTOS A DELTAMETRINA PURA.....	129
TABLA 40. NÚMERO (EN BASE A 100 REGISTROS POR RÉPLICA) DE ÓVULOS FECUNDADOS Y NO FECUNDADOS DE <i>M. CHILENSIS</i> EXPUESTOS A ALPHA MAX.	130
TABLA 41. NÚMERO (EN BASE A 100 REGISTROS POR RÉPLICA) DE ÓVULOS FECUNDADOS Y NO FECUNDADOS DE <i>M. CHILENSIS</i> A CONSECUENCIA DE LA EXPOSICIÓN DE ESPERMIOS A AZAMETIFOS.....	131
TABLA 42. NÚMERO DE LARVAS DE <i>M. CHILENSIS</i> EN ESTADO D NORMAL Y EN ESTADOS DE DESARROLLO PREVIOS O ANORMALES (TROCÓFORA, DEFORMES) DESPUÉS DE UNA EXPOSICIÓN DE 6 DÍAS A CIPERMETRINA PURA.	132
TABLA 43. NÚMERO DE INDIVIDUOS EN ESTADO DE DESARROLLO NORMAL (LARVA D) Y ANORMAL (LARVA DEFORME, TROCOFORA O IRRECONOCIBLE) DE <i>M. CHILENSIS</i> EXPUESTOS A BETAMAX®.	133
TABLA 44. NÚMERO DE LARVAS DE <i>M. CHILENSIS</i> EN ESTADO D NORMAL Y EN ESTADOS DE DESARROLLO PREVIOS O ANORMALES (TROCÓFORA, DEFORMES) DESPUÉS DE UNA EXPOSICIÓN DE 6 DÍAS A DELTAMETRINA PURA.....	134

TABLA 45. NÚMERO DE LARVAS DE <i>M. CHILENSIS</i> EN ESTADO D NORMAL Y EN ESTADOS DE DESARROLLO PREVIOS O ANORMALES (TROCÓFORA, DEFORMES) DESPUÉS DE UNA EXPOSICIÓN DE 6 DÍAS A DELTAMETRINA.....	135
TABLA 46. NÚMERO DE LARVAS D NORMALES (NORMAL) Y ESTADOS DE DESARROLLO ANORMALES (ANORM) COMO LARVAS D DEFORMES, TROCÓFORAS Y EMBRIONES AMORFOS E IRRECONOCIBLES, EN UN RECUESTO DE 100 ESTADOS DE DESARROLLO DE <i>M. CHILENSIS</i> EXPUESTOS DURANTE 6 DÍAS A AZAMETIFOS.....	136
TABLA 47. EXPERIMENTOS REALIZADOS COMO PARTE DE ESTE ESTUDIO.....	137
TABLA 48. ANOVA 2-VÍAS PARA EVALUAR EL EFECTO DEL ORIGEN DEL PIRETROIDE (COMERCIAL O PURO) Y LA CONCENTRACIÓN DE ÉSTE PARA (A) CIPERMETRINA, (B) AZAMETIFOS, Y (C) DELTAMETRINA, SOBRE LAS TASAS DE ACLARAMIENTO DE LARVAS VÉLIGER DE <i>M. CHILENSIS</i>	140
TABLA 49. ANOVA 2-VÍAS PARA EVALUAR EL EFECTO DEL ORIGEN DEL PIRETROIDE (COMERCIAL O PURO) Y LA CONCENTRACIÓN DE ÉSTE PARA (A) CIPERMETRINA, (B) AZAMETIFOS, Y (C) DELTAMETRINA, SOBRE LAS TASAS DE INGESTIÓN DE LARVAS VÉLIGER DE <i>M. CHILENSIS</i>	140

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo General

Determinar las concentraciones en agua y sedimento de los productos químicos utilizados como antiparasitarios (cipermetrina, deltametrina y azametifos) por la salmonicultura, junto con evaluar los posibles impactos en la biota acuática marina.

1.2. Objetivos Específicos

1. Realizar una recopilación de antecedentes referida a los posibles efectos en la flora y fauna marina producto de la presencia de componentes antiparasitarios en agua y/o sedimentos. Así como todos aquellos antecedentes existentes del área de estudio, en cuanto a las características de la columna de agua, correntimetría, biota acuática y sedimentología.
2. Proponer un diseño experimental que permita determinar el alcance espacial de los productos antiparasitarios utilizados, durante una aplicación en un centro de cultivo (para cada uno de los químicos de interés en este proyecto), centrándose en aquellos centros ubicados en la X Región de Los Lagos.
3. Realizar muestreos en la columna de agua y sedimento de los productos antiparasitarios (cipermetrina, deltametrina y azametifos), incluyendo las mediciones de las variables ambientales en centro de cultivos de salmónidos que tenga influencia en la dispersión de dichos productos, tales como temperatura y salinidad en la columna de agua, así como otros antecedentes existentes en el área de estudio (correntimetría, biota y sedimentología). Para esto, deberá considerar al menos dos campañas de monitoreos en los periodos de otoño-invierno y primavera-verano.
4. Determinar la circulación en cada uno de los centros analizados mediante correntimetría lagrangiana, caracterizando las condiciones que pueden influenciar o forzar la circulación en las áreas de estudio seleccionadas, tales como el viento y la marea.
5. Efectuar un levantamiento de información en terreno de la variable biota acuática, seleccionando las estaciones más representativas.
6. Realizar análisis de toxicidad y bioensayos a la biota acuática característica del área de estudio. En estos análisis se deberá considerar especialmente muestras de mitílidos en sus diferentes etapas de desarrollo, centrandó el análisis de

biotoxicidad en los cambios que afecten el desarrollo de organismos. Se solicita considerar especialmente aquellos efectos que modifiquen el comportamiento y afecten el crecimiento de los organismos.

7. Organizar, elaborar y proporcionar toda la información generada del proyecto, en formato digital (texto plano o ASCII, planilla excel), incluyendo en cada archivo la metadata necesaria para identificar el set de datos almacenado y permitir su utilización sin necesidad de los informes o antecedentes del proyecto.

2. ANTECEDENTES

El notable crecimiento experimentado por la industria del salmón en los últimos veinte años en Chile ha permitido a este rubro posicionarse dentro de los primeros lugares de producción de salmones a nivel mundial (FAO, 2010). No obstante, la presencia de enfermedades ectoparasitarias ha significado que la industria experimente pérdidas económicas importantes dentro de su producción (Bravo et al., 2011; FAO, 2012). Una alternativa viable que contribuye a la mitigación, control y prevención de enfermedades ectoparasitarias es el uso de medicamentos veterinarios.

La aplicación de medicamentos antiparasitarios en el ambiente marino ha generado una serie de interrogantes para la ciencia y también para los que toman decisiones en relación a los posibles efectos sobre otros organismos, su destino ambiental y finalmente los riesgos derivados de su aplicación.

Un enfoque que nuestro grupo de investigación ha venido siguiendo en los últimos años, para responder a la interrogante de los riesgos, es utilizar el enfoque ecotoxicológico para responder a las preguntas que se plantean en este proyecto.

Este enfoque considera dos grandes áreas, la denominada evaluación de la exposición (determinar cuantitativamente la presencia de contaminantes en distintos compartimentos ambientales) y la evaluación de los efectos (determinar que concentración produce efectos adversos en los organismos) (Newman & Unger, 2003).

Una de las premisas del enfoque ecotoxicológico es que un elemento que determina el destino en el ambiente de un contaminante son sus propiedades físico químicas, por lo tanto, lo primero que haremos en este informe es detallar las propiedades de los productos antiparasitarios analizados en el contexto de este proyecto.

Dos tipos de medicamentos antiparasitarios se utilizan actualmente en el combate al *Caligus* spp en Chile, a saber, los piretroides sintéticos cipermetrina y deltametrina, y el organofosforado azametifos. A continuación se describen sus principales propiedades que determinan su comportamiento ambiental.

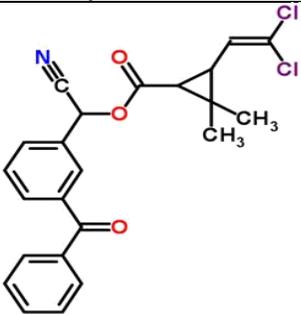
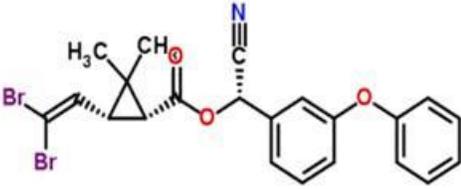
2.1. Piretroides sintéticos

Los piretroides sintéticos son un grupo de medicamento antiparasitario que se caracterizan por ser altamente hidrofóbicos ($\text{Log } K_{ow} > 4$), baja solubilidad (0,002-0,004 mg/L) y con una alta afinidad por la materia orgánica. Dentro de los piretroides

utilizados por la salmonicultura encontramos a **cipermetrina** y **deltametrina**. Su principal mecanismo de acción es interferir en el sistema nervioso central de organismos, generando una interrupción en la transmisión de impulsos nervioso entre células (Soderlund, et al., 2002). Es sabido que bajas dosis de estos piretroides pueden ser altamente efectivas sobre organismos acuáticos (Hill, 1989; Fairchild et al., 2010, Tucça et al., 2014a), siendo principalmente los crustáceos el grupo con mayor vulnerabilidad a la acción de estos químicos (Haya et al., 2005).

Algunas de las propiedades físico-químicas de los piretroides cipermetrina y deltametrina se muestran en Tabla 1.

Tabla 1. Propiedades físico-químicas críticas de piretroides sintéticos*.

Propiedades	Piretroides	
	<i>Cipermetrina</i>	<i>Deltametrina</i>
Estructura química		
Número CAS	52315-07-8	52918-63-5
Fórmula química	C ₂₃ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃
Peso Molecular (g/mol)	416.297	505.199
Solubilidad en agua a 25°C (mg/L)	0.004	0.002
Presión de Vapor a 25°C (Pa)	8.7E-07	2.0E-06
Log Kow	6.6	6.2
Log Koc	5.54	4.21

*Nota: Datos fueron extraídos desde Mackay et al., 2006. Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals.

Modo de uso

Los piretroides sintéticos son aplicados a través de tratamientos por baños mediante dosis del producto comercial de 0,3 mL/m³ para cipermetrina (Betamax[®]) y entre 0,2 mL/m³ (AMX[®]) a 0,3 mL/m³ (Deltafav[®]) para deltametrina en agua. Para estos tratamientos por baño se utilizan lonas suspendidas donde la red pescera es elevada a una profundidad de no más de 4 m para posteriormente aplicar la dosis antes indicada. Los tiempos de exposición del producto cipermetrina (Betamax[®]) en

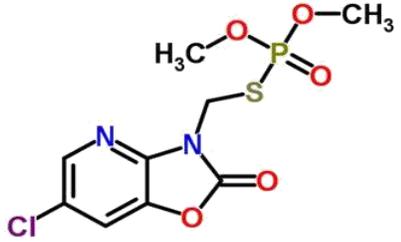
salmones es de 30 min, mientras que para deltametrina se encuentran entre 30 a 40 minutos (Registro SAG, visto en Sernapesca, 2015 (www.sernapesca.cl)).

2.2. Organofosforado

El organofosforado **azametifos** es agente quimioterapéutico recientemente aprobado por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) para el control de ectoparásitos en el sur de Chile. Este químico se caracteriza por ser hidrofílico, soluble en agua (1.1 g/L) y presentar una baja probabilidad de acumularse en sedimentos marinos (Haya et al., 2005). Su principal mecanismo de acción es generar efectos neurotóxicos, inhibiendo principalmente a la enzima acetilcolinesterasa (AChE) (Baillie, 1985). En cuanto a sus efectos ecotoxicológicos azametifos ha mostrado ser altamente efectivo en diferentes estados de desarrollo de organismos marinos, principalmente crustáceos (Burrige et al., 2000).

Algunas de las propiedades físico químicas del organofosforado azametifos se muestran en Tabla 2.

Tabla 2. Propiedades físico-químicas críticas del organofosforado azametifos*.

Propiedades	Azametifos
Estructura química	
Número CAS	35575-96-3
Fórmula química	C ₉ H ₁₀ Cl ₁ N ₂ O ₅ P ₁ S ₁
Peso Molecular (g/mol)	324.68
Solubilidad en agua a 25°C (mg/L)	1100
Presión de Vapor a 25°C (Pa)	2.78E-05
Log Kow	1.05
Log Koc	1.33

*Nota: Datos extraídos desde el software EPI suite (USEPA) y Haya et al., 2005.

Modo de uso

Azametifos se aplica a través de tratamientos por baños en salmones, empleando una dosis del producto comercial de 200 mg/m³ (Byelice[®], CalFree[®], Azasure[®] -

Azametifos 50%) en agua. Recientemente el producto comercial Azasure® fue registrado por el SAG e informado por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) para su uso en la salmonicultura.

Los tratamientos por baño se realizan a través de lonas suspendidas con una profundidad máxima de 4 m. El tiempo de tratamiento requerido para salmónes en cultivo es de 30 minutos (CalFree®) o de 30 a 60 minutos de exposición (Byelice® y Azasure®) al medicamento.

La información de dosis y tiempos de exposición para piretroides y organofosforado se encuentra en el registro de medicamentos antiparasitarios aprobados por el SAG e informados por SERNAPESCA (ver www.sernapesca.cl).

3. METODOLOGÍA DE TRABAJO

3.1. Objetivo específico 1

3.1.1. Recopilación bibliográfica de efectos en flora y fauna.

Se realizó una revisión detallada de la información ecotoxicológica disponible en literatura para los productos antiparasitarios cipermetrina, deltametrina y azametifos utilizando como material de apoyo bibliográfico la base de datos proporcionado por la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (United States Environmental Protection Agency, US EPA), principalmente en la base de datos ECOTOX (www.epa.gov/ecotox).

Posteriormente, luego del “*screening*” completo entregado por la base de datos ECOTOX se procedió a realizar una búsqueda detallada en artículos científicos mediante buscadores como: ISI WEB OF KNOWLEDGE, SCOPUS, GOOGLE SCHOLAR, SCIENCE DIRECT, SCIELO en el cual la Universidad de Concepción tiene acceso directo a artículos científicos publicados en revistas de corriente principal.

La información ecotoxicológica fue clasificada y analizada en una planilla Excel siendo ordenada según:

- Compuesto antiparasitario.
- Especie.
- Taxa (microalga, crustáceo, pez, etc.).
- Tipo de respuesta: aguda (CL₅₀, CE₅₀, IC₅₀) o crónica (NOEC y LOEC).
- Tiempo de exposición (horas).
- Referencias bibliográficas.

Debido a una mayor disponibilidad de datos ecotoxicológicos agudos (CL₅₀/EC₅₀) en los diferentes taxa se llevó a cabo una gráfica comparativa (escala logarítmica) entre los organismos marinos, según compuesto antiparasitario. Para mayor información de los estados de desarrollo de los organismos ensayados y sus correspondientes referencias bibliográficas ver anexo I. Por otro lado, ensayos de toxicidad con formulaciones comerciales fueron clasificados en Tablas.

3.1.2. Antecedentes en el área de estudio.

Fueron incorporados antecedentes de estudios oceanográficos realizados en el sur de Chile, específicamente en la región de estudios comprendida entre el Seno

Reloncaví-Golfo de Ancud y el Golfo de Corcovado-Boca de Guafo (publicaciones desde: www.cona.cl / www.subpesca.cl). Mapa generalizado de la zona en estudio se encuentra en anexo I. Posteriormente se recopilaron antecedentes sobre el comportamiento de estos medicamentos antiparasitarios bajo diversas variables y su persistencia ambiental.

3.2. Objetivo específico 2

3.2.1. Sitios de estudio

Durante los meses de **Noviembre y Diciembre del año 2014**, se realizó la primera campaña correspondiente al periodo de muestreo Primavera-Verano en los centros de cultivo: **Quinchao** (deltametrina), **Chillidque** (cipermetrina) y **Lille 2** (azametifos), presentes en la Isla de Chiloé. Posteriormente, en los meses de **Abril y Julio del 2015** se llevó a cabo la segunda campaña correspondiente al periodo Otoño-Invierno del año 2015. En esta etapa los centros muestreados fueron los siguientes: **Puerto Haro** (deltametrina), **Punta Lucu** (azametifos) en la Isla de Chiloé y el centro **Paso Quenu** en Calbuco (cipermetrina) (Figura 1).

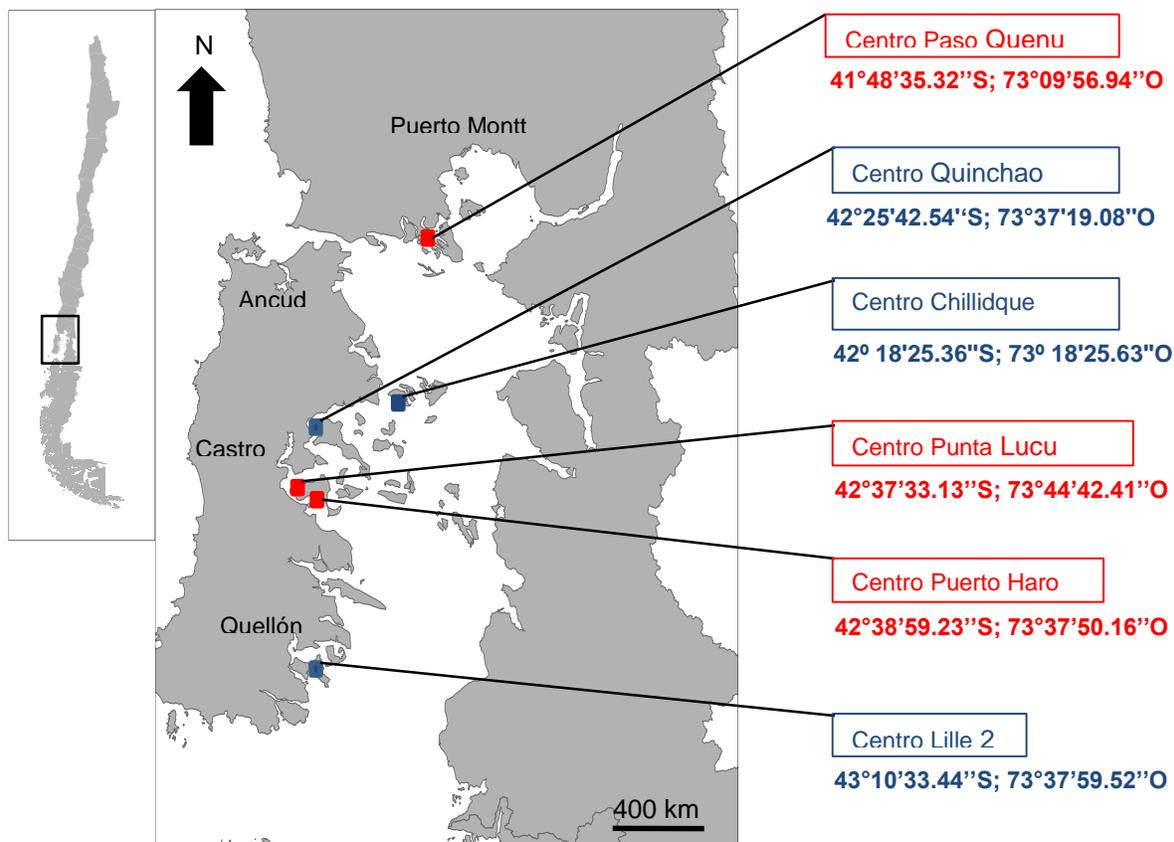


Figura 1. Ubicación de centros de cultivo con aplicación de antiparasitarios durante las campañas primavera-verano (azul) y otoño-Invierno (rojo).

3.2.2. Diseño de muestreo en agua

Las muestras de agua fueron colectadas alrededor de balsas jaulas utilizando una botella Niskin de 20 L. Posteriormente las muestras fueron transportadas a laboratorio en botellas de vidrio ámbar a una temperatura de aproximadamente 4°C. Una muestra control fue colectada en un área alejada a los tres primeros, correspondientes a la campaña primavera-verano. Por cada centro de cultivo se colectaron un **total de 84 muestras de agua**.

En Figura 2 se muestra la ubicación de cada uno de los puntos de muestreo para agua. De acuerdo a lo solicitado en la **primera reunión de coordinación** con autoridades del servicio (SUBPESCA) se efectuó un muestreo con diseño en cruz, considerando radios de 100 m y 500 m de distancia al centro con tratamiento de antiparasitario. Muestras de agua al interior de la jaula también fueron consideradas, siendo estas muestras registradas como 0 m. Además, durante el tratamiento, la muestra a 0 m correspondió a la concentración inicial del antiparasitario en agua. Paralelamente, las corrientes en el área de estudio fueron medidas con el objetivo de conocer el patrón de dispersión de los antiparasitarios liberados hacia el agua de mar. Detalles de las corrientes en los centros de cultivo (periodo primavera-verano) se muestran en objetivo específico 3.4.

La colección temporal de muestras se llevó a cabo antes (pre-tratamiento), durante (tratamiento) y después (post-tratamiento) de la liberación de los antiparasitarios. El pre-tratamiento (T0) se efectuó al menos 1 día antes de la aplicación del antiparasitario en salmones. Luego, se tomaron muestras durante el tratamiento (T1, 0 hr.) dentro y alrededor de la balsa jaula (instante en que fue liberado el producto químico). Finalmente, se llevó a cabo un muestreo post-tratamiento luego de 3 (T2) y 6 horas (T3) iniciada la liberación del antiparasitario (Figura 2).

En caso particular, para aquellos centros con aplicación de deltametrina, tales como centro Quinchao y centro Puerto Haro, se llevó a cabo un muestreo en superficie y profundidad (15 m), según la dirección de la corriente. En este diseño fue excluida la toma de muestra en dirección contraria a la corriente. Este planteamiento se decidió en conjunto con autoridades del SUBPESCA, SERNAPESCA Y FIPA en la primera reunión de coordinación, previo a la ejecución del presente proyecto FIPA N°2014-42.

T0= pre-tratamiento
T1= tratamiento (0 hr.)
T2= post-tratamiento (3 hrs.)
T3= post-tratamiento (6 hrs.)

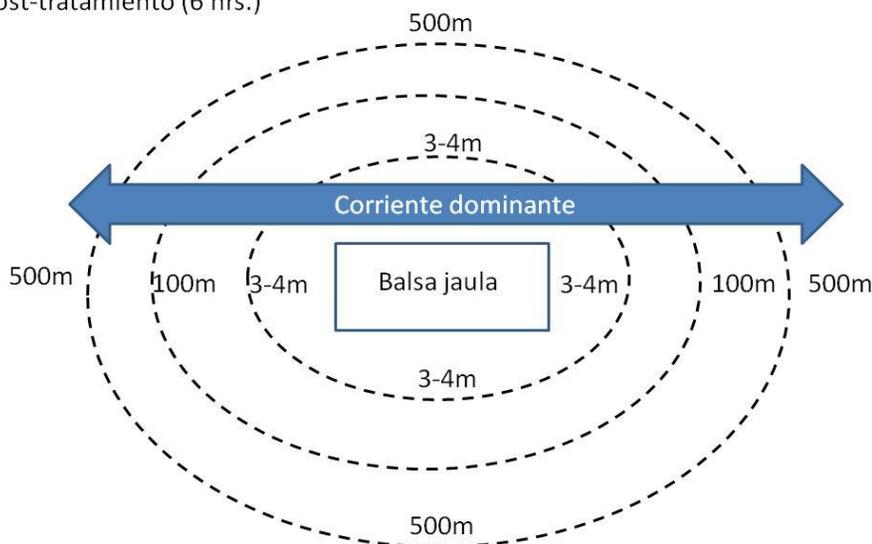


Figura 2. Diseño de muestreo utilizado para la toma de muestras de agua.

3.2.2.1. Muestreadores pasivos

Durante la última década, diversos dispositivos de muestreo pasivo (DMP) han sido utilizados como una útil herramienta de monitoreo para un amplio rango de contaminantes (Vrana et al., 2005; Seethapathy et al., 2008), tales como compuestos polares (Kaserzon et al., 2014), hidrofóbicos (St George et al., 2011) y metales pesados (Roig et al., 2011). Estos DMP permiten detectar (o absorber) contaminantes en campo, logrando integrar información en el tiempo y espacio, así como también estimar niveles trazas de la fracción disuelta en agua (Booij et al., 2007). Teóricamente, los muestreadores pasivos presentan una cinética de ingreso del químico (o analito) durante su despliegue en terreno, como resultado de la diferencia de concentraciones entre el medio acuoso y el muestreador. Así, durante este tiempo los DMP pueden incrementar su concentración hasta alcanzar el equilibrio (Mayer et al 2003).

El polímero acetato de vinil etileno (EVA) es un tipo de DMP utilizado para monitorear diversos compuestos químicos en agua de mar (St George et al., 2011; Tucca et al., 2014b). Entre las principales ventajas de este polímero encontramos: su adaptabilidad a diversos sustratos (ej. filtros, aluminio, vidrio etc.), fácil preparación, resistencia a condiciones ambientales adversas (ej. altas presiones, temperatura, radiación UV) y efectivo en la absorción de compuestos orgánicos.

Para la preparación de los DMP, primero el polímero EVA fue disuelto en solvente diclorometano con el objetivo de cubrir filtros de fibra de vidrio (GF/F marca Whatman®, 14 cm de diámetro). Previo al baño con EVA, los filtros fueron muflados y pesados, lo cual permitió estimar la masa promedio entre filtros con y sin EVA. Considerando una densidad en EVA de 0,93 g/cm³ fue posible estimar el volumen de EVA (**V_s**) en cada filtro. Finalmente, los filtros fueron guardados a menos 20°C para su posterior calibración y despliegue en campo.

Los DMP fueron calibrados en laboratorio con el objetivo de conocer la tasa de muestreo (**R_s**) y el coeficiente de reparto de los antiparasitarios entre el muestreador y el agua (**K_{sw}**). Con estos datos fue posible estimar las concentraciones de antiparasitarios en campo utilizando la ecuación (1):

$$N = K_{sw} V_s C_w \left[1 - \exp\left(-\frac{R_s t}{K_{sw} V_s}\right) \right] \quad (1)$$

donde **N** es la cantidad de químico absorbida por un muestreador pasivo, **t** el tiempo de despliegue en campo y **C_w** la concentración del químico en agua.

Durante el periodo de muestreo, 4 DMP (con 2 muestreadores cada uno) fueron desplegados alrededor de balsas jaulas a una distancia aproximada de 3 m del centro de cultivo. Estos DMP fueron ubicados como se muestra en Figura 2, apoyándose de boyas o en el borde de las balsas jaulas (Figura 3). Además, un quinto DMP fue localizado a mayor distancia (ej. pontón) del centro de cultivo. El total de DMP se desplegó durante aproximadamente siete días en campo. **En total fueron desplegados 10 filtros alrededor de las balsas jaulas.**

Extracción y análisis

La extracción de filtros EVA se realizó de acuerdo a lo planteado en Tucca et al., 2014. Brevemente, los filtros fueron sumergidos en solvente metanol (100 mL) por 24 horas para posteriormente ser concentrador en rotavapor hasta un volumen aproximado de 1 mL. Restos de fibra proveniente de los filtros (GFF) fueron eliminados a través de una columna con sulfato de sodio (NaSO₄) y fibra de vidrio. Finalmente, la solución fue concentrada a sequedad con nitrógeno gas y reconstituida en solvente tolueno (1 mL) en viales ambar de 1,5 mL. El análisis de las muestras se realizó por GC NCI-MS y HPLC para piretroides y azametifos, respectivamente.



Figura 3. Despliegue de muestreadores pasivos en campo.

3.2.3. Diseño de muestreo en sedimento.

Para la colección de muestras de sedimento superficial se utilizó manualmente una draga Van Veen (superficie muestreada 462 cm² - largo: 21,5 cm, ancho: 21,5 cm; volumen ~2L). El diseño de muestreo para cada uno de los centros de cultivo es representado en Figura 4. Temporalmente, las muestras de sedimento fueron colectadas al menos un día antes de la aplicación del producto antiparasitario (pre-tratamiento, T0) y luego de 1 semana liberado al ambiente marino (post-tratamiento, T1). Aquí, al igual que el diseño en agua, las muestras de sedimento fueron colectadas a distancias de 0 m, 100 m y 500 m (diseño en cruz). Las muestras de sedimento fueron guardadas en sobres de aluminio y transportadas a laboratorio a baja temperatura. Por cada centro de cultivo se intentó completar un número de **42 muestras de sedimento, no obstante, debido a las características de fondo duro en algunos sectores fue imposible conseguir muestras de sedimento y completar el número de muestras propuestos para este estudio (Ej. Centro Punta Lucu).**

3.2.4. Diseño de muestreo en Biota

Se realizó recolección de moluscos bivalvos localizados en pontones y boyas alrededor de balsas jaulas con el objetivo de cuantificar residuos de antiparasitarios en los tejidos. Los bivalvos fueron guardados en hielo y transportados al laboratorio. Luego en laboratorio un número de entre 10 a 15 individuos fueron macerados generando un pool de muestra para su posterior análisis por cromatografía.

Por otro lado, muestras de bentos y plancton fueron colectadas manualmente en terreno utilizando una draga Van Veen (superficie muestreada 462 cm² - largo: 21,5 cm, ancho: 21,5 cm; volumen ~2L) y red de plancton (55 µm de poro; 25 cm diámetro aro de entrada; 50 cm de largo; 42,4 cm³ volumen colector), respectivamente. Para el plancton se realizaron lances horizontales (superficie) a través de un lento movimiento con el bote. Estas muestras se tomaron con el objetivo de caracterizar la estructura de organismos marinos presentes en las diferentes áreas de estudio.

Las muestras de bentos y plancton marino fueron colectas en un solo eje a distancias de 0, 100 y 500 m, antes y después del tratamiento en el centro de cultivo. El objetivo de este estudio fue conseguir **un total de 18 muestras de bentos y 18 muestras de plancton, sin embargo, dificultades en la toma de muestra de sedimento (fondo duro) imposibilitaron completar en número propuesto.**

T0= pre-tratamiento

T1= tratamiento (1 semana)

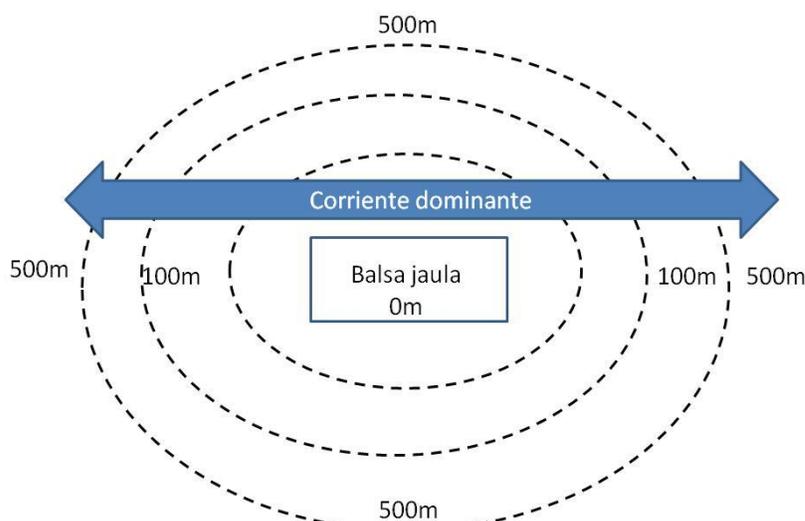


Figura 4. Diseño de muestreo utilizado para la toma de muestras de sedimento.

3.3. Objetivo específico 3

3.3.1. Muestreo de antiparasitarios en agua y sedimento

La metodología de muestreo y el diseño en matrices ambientales (agua y sedimento) son especificados en el ítem anterior. Sin embargo, para este objetivo la obtención de los resultados depende directamente de la cuantificación de los 3 compuestos en estudio y para eso, los métodos de análisis son los siguientes:

3.3.1.1 Análisis Piretroides

Muestras de agua: Se midió 30 mL de muestra de agua en un tubo de centrifuga con tapa, en el cual se adicionaron 10 mL de solvente n-hexano, posteriormente es agitado y homogenizado por 1 minutos y dos veces. Posteriormente las fases acuosa y orgánica son separadas, siendo esta última trasvasijada a balones de vidrio. El extracto se concentró en rotavapor a una gota y se trasvasijó a viales ámbar. Mediante flujo de nitrógeno se reconstituye la muestra con isooctano a un volumen final de 1000 μ L (Figura 5).

Muestras de Sedimento: Se pesó 1 g de sedimento seco, mezclado con 0,5 g de cobre en polvo, al cual se adicionó 20 mL de n-hexano:diclorometano (2:1), luego se llevó a ultrasonido por 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente al extracto se le realizó un clean-up con florisil en columna, las cuales fueron acondicionadas previamente con etil acetato: diclorometano (2:1). El extracto orgánico fue pasado por la columna y fue eluidas con 50 mL de etil acetato. Las muestras fueron concentradas en rotavapor y reconstituidas en etil acetato a un volumen de 250 μ L, para su posterior análisis GC-NCI-MS (Figura 6).

Muestras de Organismos: Se pesó 0,2 g de organismo liofilizado, se adicionó 20 mL de n-hexano:diclorometano (2:1), luego se llevó a ultrasonido por 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente al extracto se le realizó una extracción con cartuchos C-18 SPE (Extracción en Fase Sólida) en conjunto con alúmina básica en columna, las cuales fueron acondicionadas previamente con acetonitrilo. El extracto fue eluido con 30 mL de acetonitrilo. Las muestras fueron concentradas en rotavapor y reconstituidas en etil acetato a un volumen de 250 μ L, para su posterior análisis GC-NCI-MS (Figura 7).

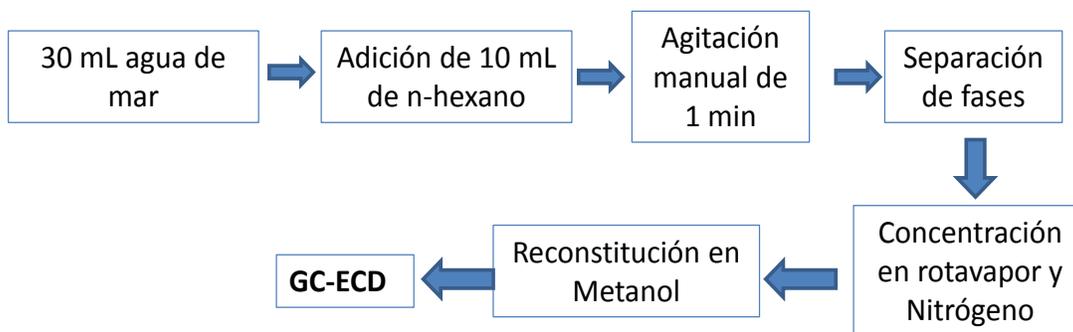


Figura 5. Esquema de extracción de muestras de piretroides en agua.

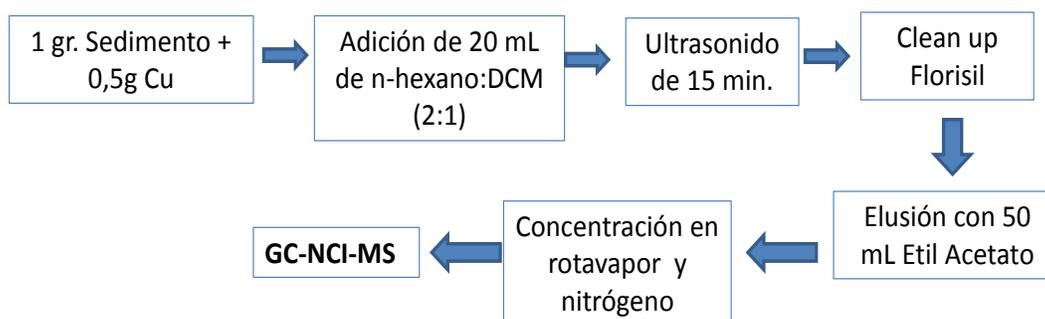


Figura 6. Esquema de extracción de muestras de piretroides en sedimento.

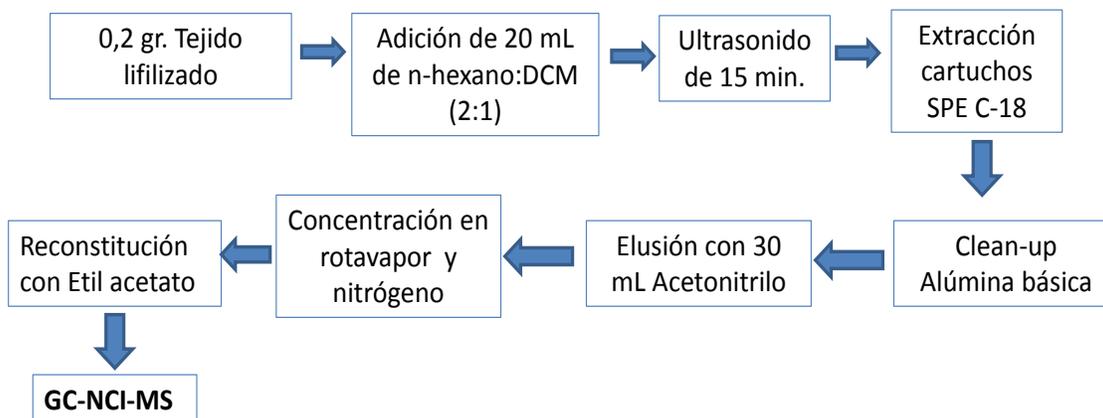


Figura 7. Esquema de extracción de muestras de piretroides en organismos.

Las muestras fueron analizadas mediante cromatografía de gas con detector captura de electrones (CG-DCE) basada en emisiones de electrones partícula β , el cual entrega mayor selectividad sobre compuestos halogenados. La temperatura de inyector y detector fue de 240°C y 370°C, respectivamente. Una columna PTE-5 de 30 m x 0.25 μ m x i.d. 0.25 mm fue usada para el análisis. El programa de temperatura en CG-DCE fue inicialmente de 50°C por 1 minuto y un gradiente de

30°C a 300°C por 12 minutos. Para la confirmación de resultados obtenidos en GC-DCE las muestras fueron analizadas por cromatografía de gases Agilent 7890A triple cuadruple con detector masa (GC-MS). Esto permitió generar un respaldo fragmentando y comparativo en la identificación de compuestos piretroides. El fraccionamiento de los compuestos fue realizado a través de una columna capilar HP-5ms de 30 m de largo, 250 µm diámetro interno y 0.25 µm de espesor (5% fenil metil polisiloxano). La columna tuvo una presión constante de 30 psi, mientras que la inyección de la muestra fue de 3 µL. El programa de temperatura inicial fue de 70°C/minuto, luego se incrementó 25°C/minuto hasta alcanzar 150°C, finalmente la temperatura fue programada hasta una temperatura final de 280°C por 10 minutos. La energía de colisión en el análisis fue de 5 eV a 9.5 ciclos por segundo. A través del modo monitoreo de reacciones múltiples (MRM) fueron identificados los piretroides, en el que deltametrina fue identificada con una transición de iones de 253; 172 y 253; 174 (m/z), mientras que para cipermetrina fue de 163; 127 y 163; 91 (m/z).

Junto con lo anterior, para desarrollar de mejor manera la cuantificación de las muestras de piretroides durante las campañas Primavera-Verano y Otoño-Invierno, (baja concentración ambiental) muestras de sedimento y tejido de bivalvos fueron enviadas al Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua (IDAEA, Barcelona-España) para su cuantificación.

3.3.1.2. Análisis Azametifos

Muestras de agua: Se añadieron 20 g. de NaCl a cada muestra de agua, luego se añadió 30 mL de solvente orgánico, después la muestra es homogenizada con un agitador magnético durante 1 hora. Se separó la fase orgánica y se evaporó hasta sequedad en un rotavapor. Luego se agregó 1mL de acetonitrilo (calidad HPLC) para ser trasvasiado a un vial de 2 mL (Figura 8).

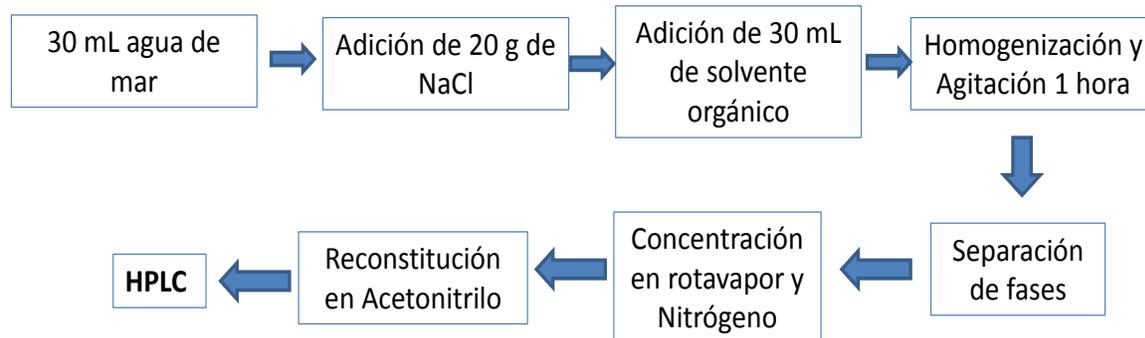


Figura 8. Esquema de extracción de muestras de azametifos en agua.

Muestra de Sedimento y organismos: La muestra es liofilizada y homogenizada para posteriormente pesar 0,5 g. de esta y mezclar con 0,5 g. de sulfato de sodio anhidro. Posteriormente se adicionan 20 mL de solvente orgánico y realizan 3 extracciones mediante ultrasonido. Este extracto se hace pasar por un clean up en columna con sílice, luego es eluido el extracto con ácido acético al 0,5% en acetonitrilo llevando a un volumen final de 2 mL (Figura 9).

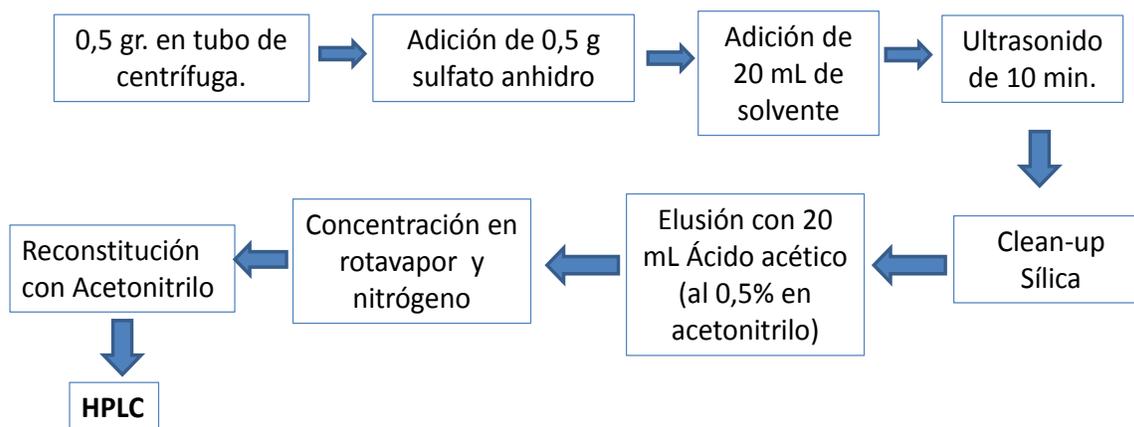


Figura 9. Esquema de extracción de muestras de azametifos en sedimento y organismos.

El análisis se realizó mediante HPLC-DAD y UV/Vis en las siguientes condiciones:

- Columna, Supelco LC-18-DB fase inversa (250x 4,6 mm)
- Fase móvil; agua: acetonitrilo (60:40)
- Flujo; 1,2 ml/min (isocrático)
- Longitudes de onda referencial: 360nm, ancho de banda de 20 nm, azametifos: 205 nm
- Temperatura del detector: 40° C.

3.3.1.3. Medición de variables ambientales

Agua

Se realizaron lances con el instrumento CTDO por cada uno de los centros, la ubicación de dichos lances se efectuó en una posición aledaña a las balsas jaulas. Para la medición de variables ambientales en la columna de agua se utilizó un equipo CTDO marca Sea Bird modelo SBE 19Plus Versión 2 SeaCat Profiler, el cual posee sensores de Temperatura, Salinidad, Oxígeno disuelto, Fluorescencia, pH y Turbidez. Los datos obtenidos mediante el lance de este equipo fueron procesados a través del software SBEDataProcessing_Win32_V7_23_2.

Sedimentos

Se realizó una caracterización granulométrica y de materia orgánica en muestra de sedimento para cada uno de los sitios de muestreo alrededor de los centros de cultivo (coordenadas geográficas en objetivo específico 2).

Granulometría

Para estimar la distribución del tamaño de partículas de la muestra, se colectó una submuestra de sedimento desde la muestra original, la cual fue tamizada a 2000 μm . La fracción menor a 2000 μm fue introducida en un analizador Mastersizer3000, a través de la unidad de dispersión HydroEV, utilizando agua como líquido dispersante. La distribución del tamaño de partículas fue estimada mediante difracción laser, lo cual permite detectar partículas dentro de un rango de tamaño de 0,01 a 3000 μm . Todas las mediciones fueron realizadas en triplicado. El instrumento entrega en porcentajes los tamaños de las partículas, los cuales son determinados por el ángulo de difracción de las partículas, a través de funciones matemáticas y geométricas basadas en la teoría del diámetro de la esfera equivalente y la aproximación de Mie (Labplus International, 2000). Posteriormente, estos resultados fueron introducidos en la planilla Gradistat v8.0 (Blott, 2010) para obtener los parámetros granulométricos en unidades phi (ϕ) según el método de momento.

Materia Orgánica

Para determinar el porcentaje de contenido orgánico en las muestras, se colectó una submuestra de sedimento (5 a 10 gramos) desde la muestra original. Estas fueron secadas al aire y tamizadas a 2 mm. La porción menor a 2 mm, fue secada en la estufa a 105 ± 5 °C durante 2 horas. Se calculó el peso de la muestra seca y se colocó en un crisol, previamente pesado. Los crisoles con muestras fueron introducidos en una mufla a una temperatura de 360°C durante 16 horas.

Finalmente, las muestras se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron (Sadzawka et al., 2006).

Para calcular la materia orgánica como pérdida de peso por calcinación se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Pérdida por calcinación (\%)}: \frac{a - b}{a - c} \times 100$$

Donde:

a= Masa en gramo del sedimento seco a $105 \pm 5^\circ \text{C}$ + crisol

b= Masa en gramo del residuo de la calcinación + crisol

c= Masa en gramo del crisol

3.4. Objetivo específico 4

3.4.1. Correntimetría Lagrangiana

Para el estudio de corrientes lagrangiana se utilizaron derivadores (tipo cruceta), los cuales permitieron determinar patrones de dirección en corrientes superficiales y subsuperficiales de la columna de agua. Los lances de derivadores se realizaron preferentemente en periodo de sicigia, como fue acordado en la primera reunión de coordinación con autoridades del SERNAPESCA; SUBPESCA Y FIPA. La posición de derivadores fue determinada a través de GPS, mediante lecturas cada 15 minutos. También, fueron considerados datos de magnitud y dirección de vientos (Ver imágenes en Anexo IV).

Los derivadores utilizados fueron del tipo veleta cruzada, a nivel superficial y a nivel de fondo o sub-superficial. Cada derivador constó de un mástil solidario al elemento de flotación, en el cual se dispusieron banderolas de identificación. A cada derivador se le instaló un GPS-DG100 Data logger marca Garmin, para así, graficar la trayectoria de cada derivador en el programa SURFER 8.0 (Figura 10). Para el lanzamiento de los derivadores se utilizó el apoyo de una embarcación menor. A partir de las sucesivas posiciones que asuma el derivador en cada lance se determinó la dirección y magnitud de las corrientes asociadas, confeccionándose tablas resumen para cada punto en particular.



Figura 10. GPS-DG100 Data logger utilizados en la experiencia de derivadores.

Junto con la experiencia de derivadores lagrangianos, se realizaron mediciones de vientos utilizando un anemómetro portátil Air Velocity Meter Marca Tenmars Modelo TM-413 (Figura 11).



Figura 11. Anemómetro utilizado para la medición de vientos en cada zona de estudio.

A partir de las trayectorias obtenidas con el GPS para cada derivador se obtuvo las siguientes variables:

Distancia residual (L_r): Representa la distancia efectiva que recorrió el derivador, es decir, la distancia entre el punto inicial y final del derivador.

Magnitud residual (M_r): Corresponde a la magnitud de la corriente obtenida a partir de la distancia residual y el tiempo total que demoró el derivador desde el punto inicial hasta su posición final.

Dirección residual (D_r): Es la dirección efectiva de la trayectoria del derivador obtenida a partir de la posición inicial y final.

Constancia de la corriente (CC): Esta dada por el cuociente entre la distancia total recorrida por el derivador y la distancia residual.

3.5. Objetivo específico 5

3.5.1. Biota acuática

3.5.1.1. Índices ecológicos

Para evaluar la diversidad biológica en la comunidad bentónica y fitoplanctónica, durante el periodo de tratamiento en los centros de cultivos, se empleó un análisis comunitario consistente en cálculos de biodiversidad de Margalef e índice de Diversidad de Shannon (H')

a) Índice de diversidad específica de Shannon & Weaver fide (Pielou, 1969):

$$H' = -\sum p_i \ln p_i$$

Mide el grado promedio de incertidumbre en predecir a que especie pertenecerá un individuo escogido al azar. El valor máximo suele estar cerca de 5, pero hay ecosistemas excepcionalmente ricos que pueden superarlo. A mayor valor del índice indica una mayor diversidad del ecosistema.

b) Índice de Margalef (Margalef, 1958)

$$\text{Biodiversidad} = (S-1)/\log N$$

donde S es el número de especies y N el número total de individuos. Establece una medida del número de especies presentes en un determinado número de individuos.

3.5.1.2. Fitoplancton

Las muestras de fitoplancton fueron colectadas utilizando una red de plancton con una malla de 55 μm . Estos lances fueron realizados de manera horizontal (superficie) mediante movimientos lentos con el bote. Las muestras fueron coletadas previo al tratamiento con antiparasitarios (T₋₁), luego durante del primer tratamiento (T₀) y finalmente después de 3 (T₃) y 6 (T₆) horas. Las distancias de la toma de muestras fueron a 0 m, 100 m y 500 m en una dirección desde el centro de cultivo.

Para determinar los cambios temporales y espaciales en la comunidad fitoplanctónica, durante el periodo de tratamiento en centros de cultivos, se elaboró en una planilla Excel un listado de organismos fitoplanctónicos identificados en cada una de las campañas, los cuales fueron clasificados por factores como: centro de cultivo, distancia al centro de cultivo (0m, 100m y 500m) y periodo de tratamiento (pretratamiento y postratamiento). Posteriormente, para determinar diferencias entre factores como distancia (espacial) y tratamiento (temporal) se realizó un análisis estadístico multivariado utilizando el software Primer V6. Utilizando los

datos de abundancia para especies fitoplanctónicas se realizó una medición de la semejanza entre los datos mediante del análisis de similitud Bray-Curtis, para posteriormente observar gráficamente las diferencias entre factores utilizando un análisis de ordenamiento multidimensional (MDS). Luego se determinaron diferencias significativas entre factores temporales (pre y postratamiento) y espaciales (distancia a centro de cultivo) utilizando un Test de similitud (ANOSIM) de una vía.

Para el análisis cuantitativo se contabilizó el número de especies identificadas en las diferentes campañas, para todos los sitios en estudio. Posteriormente, fueron clasificadas las especies en diferentes grupos taxonómicos y cuantificados el número de individuos por grupo para observar diferencias durante el periodo de pre y postratamiento.

3.5.1.3. Bentos

Las muestras de bentos fueron colectadas utilizando una draga Van Veen, la cual pudo coleccionar muestras superficiales del sedimento (superficie 462 m²). Las muestras fueron colectadas previo al tratamiento con antiparasitarios (T₋₁) y luego de 1 semana finalizado (T₁) este tratamiento. Las distancias consideradas para la toma de muestras fueron a 0 m, 100 m y 500 m en una dirección desde el centro de cultivo.

Para determinar los cambios temporales y espaciales en la comunidad bentónica, durante el periodo de tratamiento en centros de cultivos, se elaboró en una planilla Excel un listado de organismos bentónicos identificados para cada una de las campañas, los cuales fueron clasificados por factores como: centro de cultivo, distancia al centro de cultivo (0m, 100m y 500m) y periodo de tratamiento (pretratamiento y postratamiento). Posteriormente, para determinar diferencias entre factores como distancia (espacial) y tratamiento (temporal) se realizó un análisis estadístico multivariado utilizando el software Primer V6. Mediante los datos de abundancia para especies bentónicas se realizó una medición de la semejanza de los datos a través del análisis de similitud Bray-Curtis, para luego observar gráficamente las diferencias entre factores utilizando un análisis de ordenamiento multidimensional (MDS). Luego se determinaron diferencias significativas entre factores temporales (pre y postratamiento) y espaciales (distancia a centro de cultivo) utilizando un Test de similitud (ANOSIM) de una vía.

Para el análisis cuantitativo se contabilizó el número de especies identificadas en las diferentes campañas, para todos los sitios en estudio. Posteriormente, fueron clasificadas las especies en diferentes grupos taxonómicos y cuantificados el número de individuos por grupo para observar diferencias durante el periodo de pre y postratamiento.

3.6. Objetivo específico 6

3.6.1. Bioensayos con el bivalvo *Mytilus chilensis*

3.6.1.1. Mortalidad y fijación de la larva premetamórfica

Este bioensayo se basa en la publicación de Sánchez-Lazo y Martínez-Pita (2012) donde describen el procedimiento para evaluar inhibición del asentamiento larval en larva premetamórfica de mitílido por exposición de 48 h a un compuesto potencialmente tóxico. En el bioensayo se expuso 30 larvas premetamórficas de *Mytilus chilensis* por envase, con 3 réplicas por tratamiento a las distintas concentraciones de antiparasitario por un mínimo de 48 horas. Las larvas fueron alimentadas con la microalga *Isochrysis galbana* y mantenidas en oscuridad a 16 °C. Al término del período de exposición se cuantificó bajo la lupa la proporción de larvas muertas por unidad experimental y el número de larvas fijadas al envase o entre sí. Este trabajo se realizó en el hatchery de Fundación Chinquihue, Pto Montt.

3.6.1.2. Inhibición de la fecundación

Este bioensayo se basó en el protocolo de la US EPA (1994). Este método diseñado para evaluar toxicidad con gametos de erizo, fue adaptado para gametos de moluscos bivalvos, exponiendo los espermios durante 60 minutos a las distintas concentraciones de antiparasitario y luego mezclándolos con óvulos por 20 minutos más. Se cuantificó al microscopio la proporción de óvulos fecundados, comparando con un control de agua limpia. En esta especie se esperó 2 horas post-fecundación, hasta el embrión de dos blastómeros, para asignar calidad de fecundado a los óvulos. El estrecho espacio perivitelino derivado de la fecundación es susceptible de ser interpretado erróneamente confundiendo un huevo con un óvulo

3.6.1.3. Embriotoxicidad (inhibición en el desarrollo larval)

Este bioensayo se basa en el protocolo de la ASTM (2004) para evaluar toxicidad con embriones de moluscos bivalvos, exponiendo los embriones a partir del estado de dos o cuatro blastómeros a las distintas concentraciones de la muestra por aproximadamente 6 días. Al término del período de exposición se cuantifica al microscopio el porcentaje de larvas D que alcanzaron un desarrollo normal y el porcentaje de larvas anormales (deformes o atrasadas en su desarrollo), comparado con un grupo control de agua limpia.

3.6.2. Experimentos/bioensayos de toxicidad crónica de antiparasitarios sobre el metabolismo de larvas véliger en *Mytilus chilensis*.

Se realizaron bioensayos utilizando larvas véliger de *Mytilus chilensis*, estas se expusieron a cinco concentraciones de cipermetrina, azametifos y deltametrina. En cada experimento ó bioensayo, se mantuvieron constantes las variables de temperatura, salinidad, oxígeno y alimento, para su incubación se utilizó agua de mar filtrada y alimento artificial (e.g. la haptófita, *Isochrysis galbana*, tamaño aprox. 5 mm). Todos los experimentos fueron ejecutados durante dos trabajos en terreno; 1) 03 al 08 de Noviembre de 2014, y 2) 03 al 07 de Enero de 2015.

3.6.2.1. Experimento con alimento artificial

El diseño consistió en un tratamiento control que incluyó el alimento artificial sin consumidores (sin larvas véliger de *M. chilensis*), un tratamiento blanco sin fármaco que incluye la oferta de alimento artificial, los consumidores y acetona, y un tratamiento experimental, que incluye la oferta de alimento artificial más los consumidores. Cada tratamiento fue realizado en triplicado. Las larvas de *M. chilensis* fueron obtenidas a través de producción en de la Fundación Chinquihue, en Puerto Montt. Los experimentos se realizaron utilizando botellas de policarbonato de 300 mL previamente lavadas con HCl (10%) para las incubaciones de 17 horas. Para estos experimentos se utilizó una concentración total de 35 larvas véliger por botella. Estos experimentos se mantuvieron con temperatura controlada en baños termoregulados a 14 °C y a una salinidad entre 33 a 34‰. Para estos experimentos se adicionó un inóculo del flagelado *Isochrysis galbana* a concentraciones de 5000 cels mL⁻¹, con el objeto de entregarles alimento a saturación (i.e. sobre los 300 µg L⁻¹) eliminando así el efecto ambiental de la variable 'alimento' en estos experimentos (Figura 12).

Se adicionó cipermetrina, azametifos y deltametrina en dosis que permitieron lograr concentraciones de 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, y 25 µg L⁻¹. Las botellas experimentales y control fueron incubadas por 17 h, en condiciones de temperatura controlada (14 °C). Una botella similar al control fue preservada al tiempo inicial (T₀) de incubación para el análisis del alimento para análisis de pigmentos (i.e. Clorofila *a*). Una vez finalizado el tiempo de incubación se contabilizó el total de larvas en actividad de filtración, lo cual se registró para el cálculo de las tasas de aclaramiento e ingestión y se tomaron sub-muestras T_{final} de cada una de las botellas con los tratamientos, de forma similar que para el T₀, para análisis de clorofila *a*. Las concentraciones de clorofila *a* fueron estimadas utilizando un fluorómetro calibrado Turner 10AU siguiendo a Strickland & Parsons (1972). La tasa de aclaramiento e ingestión fueron estimadas para las diferentes concentraciones de azametifos, deltametrina y cipermetrina, utilizando una modificación a las ecuaciones de Frost (1972). La tasa de ingestión y aclaramiento se determinó de acuerdo a las mediciones de clorofila *a*, calculadas de acuerdo a Frost (1972), modificado por Marín et al. (1986).

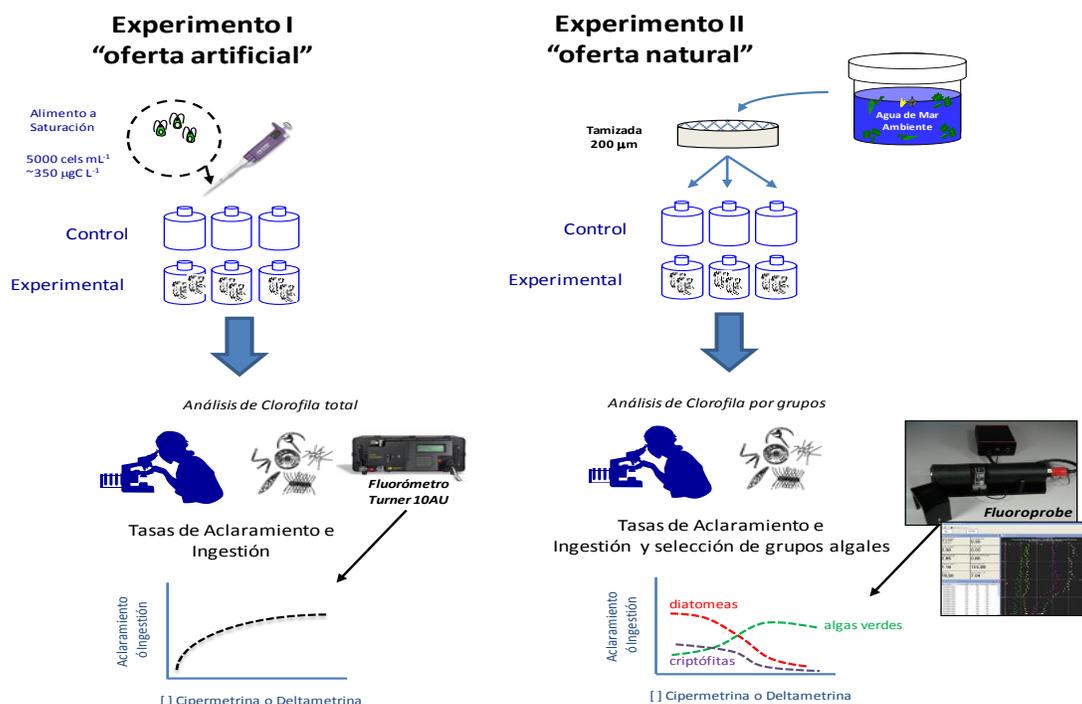


Figura 12. Diseño experimental de bioensayos toxicidad crónica de piretroides sobre las tasas de aclaramiento e ingestión de larvas véliger de *Mytilus chilensis*.

3.6.2.2. Experimento con alimento natural

Se realizaron de forma similar, experimentos o bioensayos para evaluar las tasas de aclaramiento e ingestión de larvas véliger (8 días de la fecundación) de *M. chilensis* a seis diferentes concentraciones (1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25 y 50) µg L⁻¹ de azametifos, cipermetrina y deltametrina en forma separada, pero utilizando una oferta natural de seston o material particulado. El diseño experimental fue similar a la utilizada para los ensayos de laboratorio con alimento artificial, pero utilizando una oferta natural de alimento (i.e. fitoplancton), para realizar estos experimentos se utilizó un tratamiento control sin consumidores (sin larvas véliger de *M. chilensis*), un tratamiento blanco sin fármaco que incluye los consumidores y acetona, y un tratamiento experimental que incluye los consumidores. Para la colecta de agua conteniendo fitoplancton natural (e.g. cianobacterias, criptófitas, dinoflagelados, diatomeas) se utilizaron baldes previamente lavados en HCl (10%) o en su defecto una botella Niskin de 5 L lavada previamente con HCl (10%). Una vez en el laboratorio, esta agua se tamizó por 200 µm para eliminar los consumidores meso-zooplancónicos, cuidando que las cadenas de diatomeas permanezcan y constituyan uno más de los ítems alimenticios disponibles. Esta agua de incubación (< 200 µm) incorpora la oferta natural de alimento existente en el océano costero. De forma similar al experimento con oferta artificial, se tomaron

sub-muestras de cada botella al tiempo T_0 , y T_{final} de las botellas 'control' y 'experimental', se tomaron alícuotas de 20 mL de cada una de las botellas control y experimental, para estimar la concentración de clorofila, utilizando un perfilador espectrofotométrico, bbe Fluoroprobe, el cual es un instrumento altamente sensible para el análisis de clorofila con determinación de tipos de algas (e.g. cianobacterias, algas verdes, criptófitas y, diatomeas/dinoflagelados). Utilizando este equipo, la fluorescencia de las algas producida por excitación con luz visible, depende principalmente de la presencia de clorofila *a*. La presencia de otros pigmentos accesorios es típica en las diferentes especies de algas. Las interacciones entre estos diferentes sistemas de pigmentos con la clorofila-*a* dan como resultado un espectro de excitación especial para las clases taxonómicas de algas. Lo anterior, permite poder determinar los grupos algales que han sido removidos por las larvas véliger de *M. chilensis* a las diferentes concentraciones de azametifos, cipermetrina y deltametrina. La tasa ingestión y aclaramiento se determinó de acuerdo a las mediciones de clorofila *a*, calculadas de acuerdo a Frost (1972), modificado por Marín et al. (1986) (Figura 12).

3.6.2.3. Análisis de datos

La variabilidad de las tasas de aclaramiento e ingestión para las larvas véliger de *M. chilensis* se analizaron utilizando un test ANOVA 1-vía (R Software, v3.1.1) en relación a las diferentes concentraciones de piretroides ensayadas (cipermetrina, azametifos, deltametrina). Además la interacción del origen de cada piretroide (compuesto puro versus comercial) y su concentración fue relacionada utilizando un test ANOVA 2-vías.

3.7. Objetivo específico 7

3.7.1. Elaboración base de datos

La base de datos del proyecto se entregó a través de una planilla Excel, la cual presenta hipervínculos para cada uno de los datos y resultados obtenidos en este proyecto. Estos datos se adjuntaron en un CD-ROM.

4. RESULTADOS

4.1. Revisión bibliográfica de efectos en organismos marinos.

4.1.1. Cipermetrina

Toxicidad en organismos marinos

Microalgas

La toxicidad de cipermetrina sobre microalgas marinas ha podido ser determinada mediante ensayos de toxicidad señalando que este compuesto presenta efectos agudos (inhibición en el crecimiento para el 50% de los organismos, IC₅₀) a diferentes tiempos de exposición. Especies como *Skeletonema costatum*, *Scrippsiella trochoidea* y *Chattonella marina* mostraron un IC₅₀ luego de 24 horas de exposición a concentraciones de 65.5 (IC_{95%}= 48-88) µg/L, 79.5 (IC_{95%}= 62-101) µg/L y 464 (IC_{95%}= 359-599) µg/L, respectivamente (Wang et al., 2010a). Otros estudios con especies *Scenedesmus obliquus* han reportado IC₅₀ de 112 µg/L luego de 96 horas de exposición a cipermetrina (Xiong et al., 2005).

Los biomarcadores son medidas funcionales y cuantificables de exposición a estresores en un nivel bioquímico, fisiológico o de comportamiento. El sistema de defensa antioxidante juega un rol importante en la homeostasis, así como también en la detoxificación de químicos para prevenir el daño celular en organismos acuáticos (Livingstone, 2001). Este daño puede ser provocado por especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales incrementan su concentración luego de una exposición a un químico. Entre los efectos que se pueden inducir al incremento de ROS encontramos el daño en macromoléculas tales como lípidos y ADN. Estudios realizados por Wang et al. (2011a; 2011b) han reportado respuestas sobre mecanismos de defensa antioxidante en las especies *Skeletonema costatum*, *Scrippsiella trochoidea* y *Chattonella marina*, donde concentraciones superiores a 50 µg/L de cipermetrina pueden activar enzimas antioxidantes defensivas y provocar daños en lípidos luego de 12 a 48 hrs de exposición.

Macroalga

Existen poco reportes sobre la evaluación de cipermetrina en macroalgas. Wang et al. (2010b) determinó que este piretroide puede generar respuestas a nivel bioquímico a una concentración de 10 µg/L en la especie *Gracilaria lemaneiformis*, después de 24 horas de exposición.

Crustáceos

Los crustáceos marinos han sido ampliamente estudiados a través de pruebas de toxicidad con cipermetrina, mostrando una alta efectividad a muy bajas dosis del producto piretroide (Figura 13). A través de ensayos de toxicidad en el camarón *Mysidopsis bahia* se ha reportado efectos agudos del químico, en el cual concentraciones letales para el 50 % de los organismos en prueba (CL₅₀) estuvo dentro del rango 0.01 a 0.005 µg/L, luego de 96 horas de exposición (Hill et al., 1985; Clark et al., 1989). Por otro lado, se ha demostrado en otros crustáceos tales como copépodos que estados naupliares presentan una mayor sensibilidad al piretroide que en estados adultos (Medina et al., 2002). Por ejemplo, un estudio realizado por Barata et al., (2002a) en el copépodo *Acartia tonsa* reportó que estados naupliares presentarían una CL₅₀ de 0.005 µg/L, mientras que en adultos fue reportada una concentración de 0.1 µg/L en ensayos de 120 horas, siendo 20 veces más tóxico en estados tempranos de desarrollo.

Ensayos de toxicidad en sedimento han reportado que especies como los anfípodos *Monocorophium insidiosum*, *Corophium volutator* y el camarón *Palaemonetes pugio* presentarían efectos letales (CL₅₀) frente a cipermetrina a concentraciones de 57, 42 y 10 µg/Kg, respectivamente, luego de un periodo de 10 días de exposición en condiciones controladas (Clark et al., 1987; Milson 1999; Tucca et al., 2014a). Otras pruebas de toxicidad aguda reportadas para crustáceos en ensayos con sedimento han mostrado respuestas en el rango de 100 a 1000 µg/Kg (Clark et al., 1989).

Bivalvos

Estudios en bivalvos han sugerido una menor sensibilidad al compuesto piretroide cipermetrina que otros invertebrados marinos. De acuerdo a la literatura disponible se observa un rango de letalidad (CL₅₀) en el rango de 59 a 10000 µg/L para diferentes especies de moluscos bivalvos. Un estudio realizado por EULA (2013) utilizando estados tempranos de desarrollo con el molusco bivalvo *Mytilus chilensis* se observó que esta especie no presentaría problemas en la tasa de fertilización de gametos en un rango de concentraciones nominal de 0.01 a 100 µg/L de cipermetrina. No obstante, cuando se evaluó la capacidad de desarrollo en embriones de *M. chilensis* se observó que este piretroide (como producto puro) presentaría efectos agudos luego de 80 minutos de exposición a concentraciones de 100 µg/L, siendo este definido como la concentración efectiva para el 50% de los organismos ensayados o CE₅₀.

Anélidos

Existen estudios de toxicidad en anélidos utilizando sedimento contaminados con el producto cipermetrina. En estos estudios se ha observado, por ejemplo, que en la especie *Arenicola marina* no se reporta una alta sensibilidad a corto plazo al

químico, sin embargo se han determinado respuesta a largo plazo donde se obtuvo concentraciones de efectos no observados (NOEC) de 1000 µg/L (SEPA 1998). Otro estudio con el anélido *Polydora cornuta* se reporta una mayor sensibilidad a cipermetrina a una concentración de 27 µg/L, luego de 96 horas de exposición (Ernst et al., 2001).

Equinodermos

Los equinodermos no muestran una alta sensibilidad en comparación a otros invertebrados marinos (Figura 13). Pruebas de toxicidad demuestran que el rango de letalidad en erizos y estrellas de mar se encuentra entre 50 y 10000 µg/L, luego de 96 horas de exposición a cipermetrina (Knight et al., 1995; Ernst et al., 2001).

Eumetazoo

Dentro de este grupo se encuentran los rotíferos, los cuales han evidenciado respuestas agudas a altas concentraciones de cipermetrina, determinándose una CL_{50-12hrs.} de 10000 µg/L (Pahl & Opitz 1999). Por otro lado, Ernst et al., (2001) reportaron para el rotífero *Brachionus plicatilis* una CL₅₀ de 500 µg/L considerándose un tiempo de exposición de 24 horas.

Peces

Respuestas de toxicidad en peces como *Gasterosteus aculeatus*, *Cyprinodon variegatus*, *Salmon salar* y *Oncorhynchus mykiss* han reportado respuestas agudas a concentraciones letales (CL_{50-96hrs}) de 8, 1, 2 y 80 µg/L de cipermetrina, respectivamente (McLeese, 1980; Hill, 1985; Ernst et al., 2001; Altinok et al., 2011). Por otro lado, Sakin et al. (2011) pudo determinar efectos fisiológicos en trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss*, reportándose estrés oxidativo (activación de enzimas antioxidantes y daño en lípidos) a los 4 días de exposición a una concentración de 1.46 µg/L.

Toxicidad de cipermetrina según formulación comercial.

Se han reportado efectos tóxicos con la formulación EXIS® en crustáceos como la langosta *Homarus americanus* para estados adultos y juveniles. Por otro lado, se ha determinado que efectos letales con la formulación comercial EXIS® en larvas de *H. americanus* se encuentra en directa relación con la temperatura de ensayo, es decir, la mayor sensibilidad se observa a bajas temperaturas. Resultados obtenidos por Pahl y Opitz, (1999) estimaron una CL₅₀ de 0.06 y 0.4 µg/L a 10 y 12°C, respectivamente. Mediante pruebas de toxicidad aguda en sedimento utilizando al anfípodo *Corophium volutator* como organismo de prueba se pudo determinar que

EXIS® presente una CL₅₀ de 5 µg/Kg luego de 10 días de exposición de cipermetrina. Para mayor detalle ver anexo I.

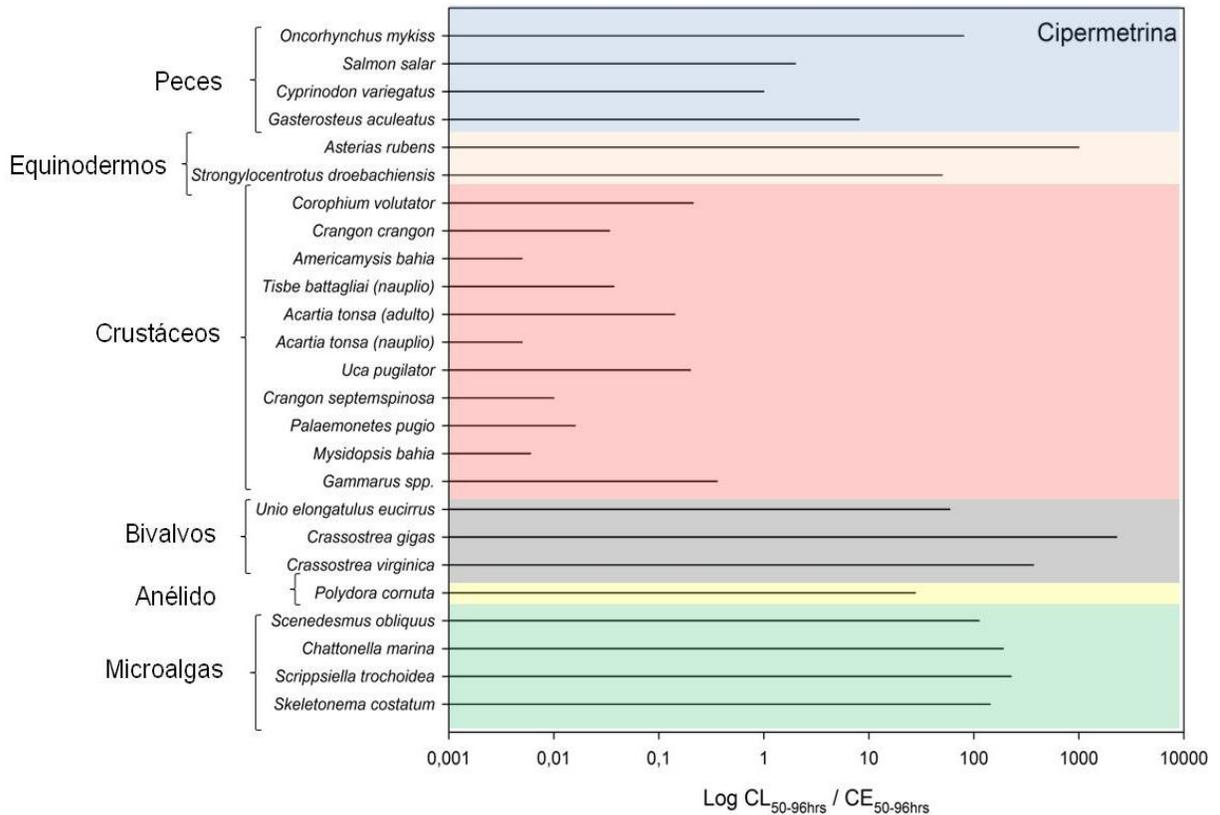


Figura 13. Datos de toxicidad aguda en escala logarítmica para cipermetrina (µg/L) luego de 96 horas de exposición en diversos organismos marinos. Diferentes colores representan diferentes taxa. Detalle de la información se encuentra en anexo I.

4.1.2. Deltametrina

Toxicidad en organismos marinos

Crustáceos

La mayor cantidad de datos ecotoxicológicos se encontraron para el grupo de crustáceos marinos (Anexo I). Evaluaciones a través de ensayos de toxicidad muestran que deltametrina es un compuesto que presenta respuestas a bajas concentraciones sobre copépodos marinos, reportándose letalidad en especies como *Tisbe battagliai* y *Tisbe longicornis* a 0.01 (CL_{50-144hrs}) y 7.7 (CL_{50-48hrs}) µg/L, respectivamente (Barata et al., 2002b; Tucça, comm pers). Similarmente, en otro crustáceo como es el caso del cangrejo *Americamysis bahia*, deltametrina ha demostrado ser altamente efectivo en su acción tóxica determinándose una CL₅₀ sobre este camarón en el rango de 0.01 a 0.03 µg/L, luego de 96 horas de exposición (USEPA, Office of Pesticide Programs, 2013).

Efectos a nivel reproductivo han podido ser medidos en la especie *T. longicornis*, en donde se pudo determinar que a una concentración de 0.06 µg/L de deltametrina fue la concentración más alta donde no se observó efectos (NOEC) en este copépodo. Mediante una evaluación durante todo su ciclo de vida expuesto al piretroide se pudo observar dificultades en el éxito reproductivo de hembras ovígeras (Tucça, comm pers).

Pruebas de toxicidad en sedimento se ha reportado en el anfípodo marino *Monocorophium insidiosum* (Tucça et al., 2014a). Los resultados de este estudio muestran una alta sensibilidad de este anfípodo al piretroide, reportándose una CL₅₀ de 7.4 µg/Kg (IC_{95%}= 5-11 µg/Kg), luego de 10 días de exposición bajo condiciones controladas.

Bivalvos

Bivalvos han mostrado ser más tolerantes a la acción del piretroides sintéticos que crustáceos marinos (Figura 14). Un estudio realizado con el molusco *Unio elongatulus eucirrus* se observa poca sensibilidad a deltametrina, reportándose una CL₅₀ de 6600 µg/L, luego de 96 hrs de exposición (Köprücü et al., 2008). Por otro lado, Kontreczky et al. (1997) utilizando a la almeja *Anodonta cygnea* como organismo de prueba pudo observar efectos adversos en su mecanismo de filtración en el rango de 10 a 50 µg/L.

Peces

Estudios de deltametrina en peces reportan principalmente efectos subletales (estrés oxidativo y capacidad de nado) en especies de cultivo, tales como trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y salmón del atlántico (*Salmo salar*). Por ejemplo, respuestas antioxidantes en *O. mykiss* se han determinado a una concentración de 0.025 µg/L luego de 24 horas (Yonar et al., 2011). Por otro lado, otro estudio realizado por Goulding et al. (2013) pudo evaluar la capacidad de nado en la misma especie determinándose que concentraciones en el orden de 0.3 µg/L pueden generar estas respuestas subletales durante los primeros días de exposición a deltametrina (1 a 4 días).

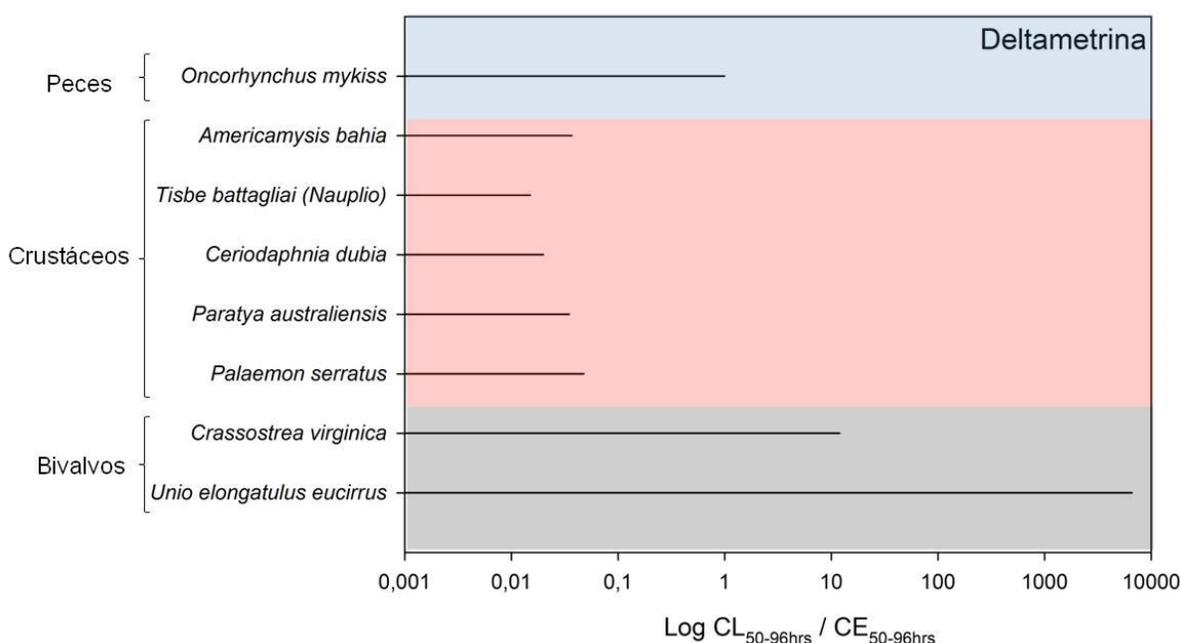


Figura 14. Datos de toxicidad aguda en escala logarítmica para deltametrina (µg/L) luego de 96 horas de exposición en diversos organismos marinos. Diferentes colores representan diferentes taxa. Detalle de la información se encuentra en anexo I.

Toxicidad de deltametrina según formulación comercial.

Evaluaciones de toxicidad en crustáceos marinos han sido publicados para formulaciones comerciales tales como AlphaMax® y Decis®. Con la formulación AlphaMax® se han reportado efectos agudos en diferentes estados de desarrollo de la langosta *Homarus americanus*, luego de 24 horas de exposición a la formulación, siendo los primeros estados de desarrollo los más vulnerables a la acción del piretroide deltametrina. Fue estimado para los estados I y II de *H. americanus* un CL₅₀ de 0.8 y 0.6 ng/L, respectivamente (BurrIDGE et al., 2014).

Similarmente, en otro estudio realizado por Fairchild et al. (2010) pudo determinar que la formulación AlphaMax® presentaría una alta toxicidad aguda en estados juveniles de *H. americanus*. Aquí se reportó una CL₅₀ en el rango de 4.7 y 3.7 ng/L en estado III de la langosta, luego de 96 horas de exposición.

Ensayos con formulación Decis® han reportado similares efectos agudos de toxicidad sobre la langosta *H. americanus*, reportándose un CL₅₀ de 4.9 ng/L en estado III de la langosta, luego de una exposición de 96 horas (Fairchild et al., 2010). En Tabla 3 se muestran datos de toxicidad aguda para las formulaciones comerciales de deltametrina.

Tabla 3. Datos de toxicidad aguda (CL₅₀ y CE₅₀) para las formulaciones comerciales AlphaMax® y Decis® reportados en crustáceos marinos.

Formulación	Especie	CL ₅₀ /*CE ₅₀ (µg/L)	Tiempo	Referencia
AlphaMax®	<i>Eohaustorius estuarius</i>	0.0131	1 hr.	Fairchild et al., 2010
AlphaMax®	<i>Eohaustorius estuarius</i>	*0.0055	1 hr.	Fairchild et al., 2010
AlphaMax®	<i>Homarus americanus</i> (stage I)	0.0008	24 hrs.	Burrige et al., 2014
AlphaMax®	<i>Homarus americanus</i> (stage II)	0.0006	24 hrs.	Burrige et al., 2014
AlphaMax®	<i>Homarus americanus</i> (stage IV)	0.0017	24 hrs.	Burrige et al., 2014
AlphaMax®	<i>Homarus americanus</i> (adultos)	0.015	24 hrs.	Burrige et al., 2014
AlphaMax®	<i>Crangon septemspinosa</i>	0.027	24 hrs.	Burrige et al., 2014
AlphaMax®	<i>Mysis stenolepsis</i>	0.0014	24 hrs.	Burrige et al., 2014
AlphaMax®	<i>Homarus americanus</i> (Stage III)	0.00474	96 hrs.	Fairchild et al., 2010
AlphaMax®	<i>Homarus americanus</i> (Stage III)	0.00374	96 hrs.	Fairchild et al., 2010
AlphaMax®	<i>Homarus americanus</i> (Stage IV)	0.0282	96 hrs.	Fairchild et al., 2010
AlphaMax®	<i>Eohaustorius estuarius</i>	0.00166	96 hrs.	Fairchild et al., 2010
AlphaMax®	<i>Crangon septemspinosa</i>	0.0453	96 hrs.	Fairchild et al., 2010
Decis®	<i>Homarus americanus</i> (Stage III)	0.00492	96 hrs.	Fairchild et al., 2010
Decis®	<i>Eohaustorius estuarius</i>	0.00032	96 hrs.	Fairchild et al., 2010
Decis®	<i>Crangon septemspinosa</i>	0.0274	96 hrs.	Fairchild et al., 2010

4.1.3. Azametifos

Toxicidad en organismos marinos

Crustáceos

Estudios realizados con el compuesto azametifos han sido enfocados principalmente en crustáceos marinos, siendo evaluados sus efectos a corto plazo o respuestas letales (Figura 15). Por ejemplo, pruebas de toxicidad en crustáceos señalan que azametifos presentaría efectos agudos en larvas de la especie *Homarus gammarus* y en el camarón *Mysidopsis bahia* a una concentraciones de 0.5 µg/L, luego de 96 horas de exposición (Haya et al., 2005). En tanto, otros estudios han señalado efectos subletales en juveniles de la langosta *Homarus americanus*, reportándose una CE₅₀ de 500 µg/L luego de 24 horas de exposición (Abgrall et al., 2000).

Bivalvos

Canty et al. (2007) en un estudio realizado con el molusco bivalvo *Mytilus edulis* pudo determinar respuestas subletales luego de 24 horas de exposición. Evaluaciones a través de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) fueron determinadas en diferentes órganos de este bivalvo, resultando en una significativa inhibición de la actividad enzimática (IC_{50-24hrs}) a concentraciones de 736 µg/L y 1300 µg/L. Sin embargo, este estudio sugiere que *M. edulis* podría presentar efectos neurotóxicos y alteraciones en funciones defensivas cuando el tiempo de exposición es superior a 24 horas y la concentración de azametifos en agua alcance los 100 µg/L (Figura 15).

Peces

Existen pocos estudios publicados de azametifos en peces (Figura 15, Anexo I). No obstante, se ha reportado la toxicidad de este organofosforado en juveniles de *Salmo salar*, luego de una hora expuesto al químico. En este estudio de pudo reportar una CL₅₀ a los 3 mg/L bajo condiciones controladas (Sievers et al., 1995).

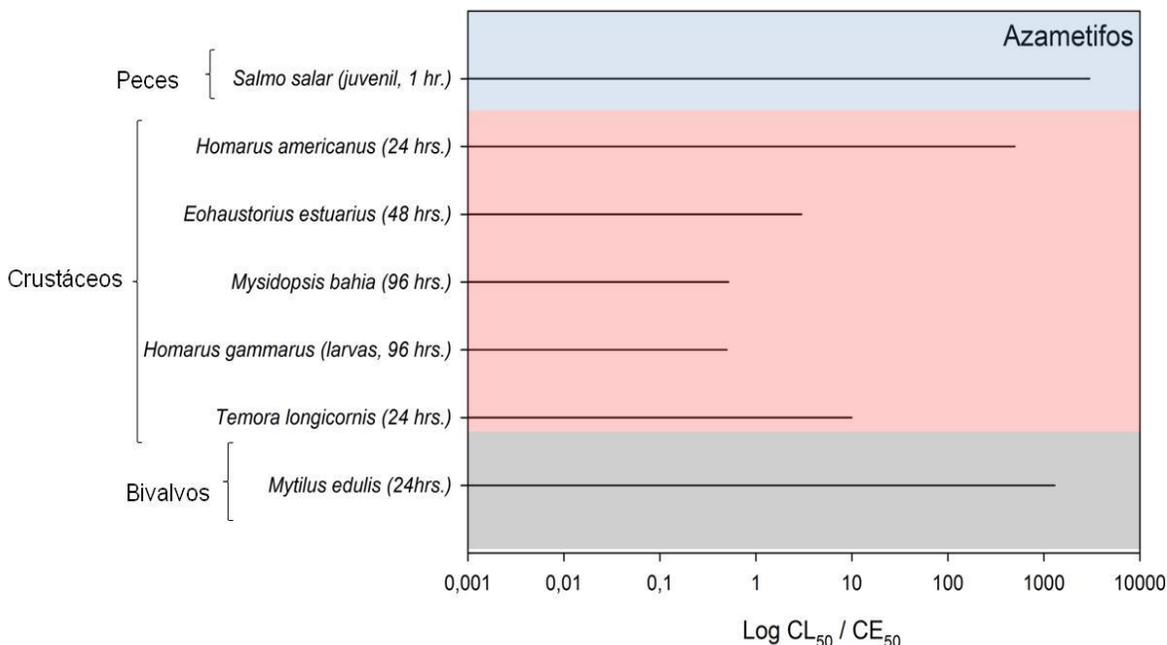


Figura 15. Datos de toxicidad aguda en escala logarítmica para azametifos ($\mu\text{g/L}$) a diferentes tiempos de exposición (en paréntesis). Diferentes colores representan diferentes taxa. Detalle de la información se encuentra en anexo I.

Toxicidad de azametifos según formulación comercial.

Estudios de toxicidad del producto comercial Salmosan® reportan efectos letales y subletales en diferentes crustáceos marinos. La langosta *Homarus americanus* ha sido la especie con mayor cantidad de reportes de sensibilidad a este producto comercial, evaluándose la sensibilidad a diferentes estados de desarrollo. Un estudio realizado por Burrige et al. (1999) determinó que Salmosan® provocaría efectos agudos en estado I, II, III y IV a concentraciones de 3.57, 1.03, 2.29 y 2.12 $\mu\text{g/L}$ luego de 48 horas de exposición al medicamento antiparasitario. Mientras que en adultos fue observada una letalidad similar a las obtenidas en estados juveniles (1.39 $\mu\text{g/L}$) durante el mismo tiempo de exposición. Posteriormente, Burrige et al. (2014) en un estudio equivalente pudo estimar en menor tiempo nuevas CL_{50} para estados tempranos de desarrollo, principalmente en estado I y adultos de *H. americanus*. Aquí, se determinó efectos letales a concentraciones de 8.9 y 2.8 $\mu\text{g/L}$, luego de 24 horas de exposición, en estado I y adulto, respectivamente. Otros crustáceos han mostrado ser menos sensibles, como fue el caso de *Crangon septemspinosa* y *Mysis stenolepsis*, los cuales han reportado efectos letales por sobre los 10 $\mu\text{g/L}$ (Tabla 4).

Ensayos en sedimento con el producto comercial Salmosan® señalan que el anfípodos *Corophium volutator* mostrarían una mayor tolerancia al compuesto

azametifos que a otros medicamentos antiparasitarios, tales como cipermetrina (formulación Exis®), reportándose una CL_{50-10días} 182 µg/Kg (Mayor et al., 2008).

Tabla 4. Datos de toxicidad aguda (CL₅₀ y CE₅₀) para la formulación comercial Salmosan® reportada en literatura.

Formulación	Especie	CL ₅₀ /CE ₅₀ (µg/L)	Tiempo	Referencia
Salmosan®	<i>Crangon septemspinosa</i>	191	24 hrs.	Burridge et al., 2014
Salmosan®	<i>Crangon septemspinosa</i>	19.2	24 hrs.	Ernst et al., 2014
Salmosan®	<i>Homarus americanus</i> (Adultos)	10	24 hrs.	Burridge et al., 2008
Salmosan®	<i>Homarus americanus</i> (Adultos)	2.8	24 hrs.	Burridge et al., 2014
Salmosan®	<i>Homarus americanus</i> (Stage I)	8.9	24 hrs.	Burridge et al., 2014
Salmosan®	<i>Mysis stenolepsis</i>	12.5	24 hrs.	Burridge et al., 2014
Salmosan®	<i>Mysis stenolepsis</i>	10.5	24 hrs.	Ernst et al., 2014
Salmosan®	<i>Homarus americanus</i> (Adultos)	1.39	48 hrs.	Burridge et al., 1999
Salmosan®	<i>Homarus americanus</i> (Stage I)	3.57	48 hrs.	Burridge et al., 1999
Salmosan®	<i>Homarus americanus</i> (Stage II)	1.03	48 hrs.	Burridge et al., 1999
Salmosan®	<i>Homarus americanus</i> (Stage III)	2.29	48 hrs.	Burridge et al., 1999
Salmosan®	<i>Homarus americanus</i> (Stage IV)	2.12	48 hrs.	Burridge et al., 1999

4.2. Recopilación de antecedentes para el área de estudio.

La desmembrada costa del sur de Chile, es una de las mayores regiones de fiordos del mundo (Pickard, 1971), la cual se extiende desde Puerto Montt hasta Tierra del Fuego, con una longitud en línea recta de alrededor de 1.000 km. Debido a que la zona estuarina del sur austral de Chile presenta una costa protegida, con aguas no contaminadas, ellas han sido profusamente utilizadas para la instalación de centros de cultivo marinos. Esta actividad que en la zona de canales australes se inició en la década del 80, fue aumentando rápidamente y, junto con otros centros de cultivo a lo largo del país. Por otra parte, esta zona ha sido utilizada para la explotación de sus recursos naturales (pesqueros, mineros y forestales), el desarrollo de centros urbanos, industriales, recreacionales, o como un medio de comunicación y transporte.

En 1994, el Comité Oceanográfico Nacional (CONA) generó un programa multidisciplinario y multinstitucional denominado Cruceros de Investigación Marina en Áreas Remotas (CIMAR), con el objetivo de estudiar aspectos oceanográficos, meteorológicos, de biodiversidad marina y de morfología submarina en zonas

geográficas remotas, donde el conocimiento del medio ambiente marino tiene una fuerte influencia en el desarrollo socio-económico sustentable de las comunidades locales y del país (ver www.cona.cl, documento: “*Avances en el Conocimiento Oceanográfico de las Aguas Interiores Chilenas, Puerto Montt a Cabo de Hornos*”). Desde su creación a la fecha se han realizado una serie de cruceros que han abarcado en diferentes oportunidades la zona comprendida entre Puerto Montt y el Cabo de Hornos. El primer crucero, denominado CIMAR Fiordo 1 (CF1) se realizó en octubre de 1995 en la zona comprendida entre Puerto Montt y Laguna San Rafael. Hasta el año 2004 (Cimar Fiordo 10) no se había vuelto a realizar otro crucero que abarcara la zona de fiordos norpatagónicos, lugar donde se enfoca el presente proyecto FIPA 2014-42.

Características oceanográficas del área en estudio.

Batimetría

En base a los antecedentes entregados por Silva et al. (1995) para la sección longitudinal compuesta por el seno de Reloncaví y el golfo de Ancud se describe un separación de estos cuerpos de agua debido a una constricción formadas por las Islas Puluqui y Queullín, presentándose 3 pasos entre ellos. El Paso Queullín se presenta como el más profundo en la zona, con 300 m (parte central), mientras que los pasos restantes no superan los 70 m de profundidad.

El seno de Reloncaví adopta una forma de cuenca casi circular con profundidades de alrededor de 300 m, las cuales aumentan hasta 470 m en una depresión intermedia localizada en la boca del estuario Reloncaví (IFOP, 2013).

Seguido del golfo de Ancud se encuentra el golfo Corcovado, los cuales se encuentran separados por una serie de islas. Las profundidades en esta zona superan los 300 m, específicamente en el área noroccidental. Por otro lado, el golfo Corcovado presenta características más expuestas al océano en su extremo suroccidental (boca del Guafo) con profundidades mayores a 150 m. En anexo I se muestra una imagen con la batimetría de la zona en estudio.

Temperatura, salinidad y oxígeno disuelto

Temperatura

La temperatura superficial que se ha registrado para el sector comprendido entre el seno de Reloncaví y golfo de Corcovado ha oscilado entre los 11,2 y 14,2°C durante verano, siendo para el sector del seno de Reloncaví donde se han reportado las más altas temperaturas. Para este mismo sector se ha registrado una termoclina estacional de intensidad moderada (1°C/10m), la cual presenta un debilitamiento progresivo hacia los golfos. Por otra parte, las temperaturas sobre 30 m de

profundidad han registrado uniformidad desde el seno de Reloncaví hasta el golfo de Corcovado, oscilando las temperaturas alrededor de 11°C (Silva et al., 1995).

Carrasco y Silva (2010), realizaron un estudio comparativo entre los años 1995 y 2004 donde se evaluaron las condiciones oceanográficas realizadas por dos cruceros de investigación (Cimar Fiordo 1 y 10). Estos autores observaron que para el sector norte comprendido entre el Seno Reloncaví y Golfo de Ancud, las temperaturas de invierno para el año 2004 fluctuaron entre 10,6 °C en superficie y 11,4°C en profundidad. Mientras que para el sector central comprendido entre golfo de Ancud hasta el golfo Corcovado, la columna de agua mostró una homogeneidad desde la superficie hasta el fondo, con temperaturas entre 10,5°C y 11,0°C. Para el golfo de Corcovado se observó que la temperatura aumentó paulatinamente con la profundidad, desde los 10,0 °C en la superficie, hasta alrededor de 10,5°C en zonas más profundas. En el sector sur, boca del Guafo, la temperatura disminuyó paulatinamente desde la superficie hacia el fondo, alcanzando valores alrededor de los 10°C (Figura 16).

Durante el periodo primaveral la temperatura superficial registrada para la zona que se extiende entre el seno de Reloncaví y golfo de Corcovado osciló entre los 11,1°C y 14,2°C, con las menores temperaturas para el golfo Corcovado y las mayores en el seno Reloncaví (Figura 17). Con respecto a perfiles de temperatura en primavera, se han reportado estratificaciones en la columna de agua, observándose para el seno de Reloncaví temperaturas superficiales (0-25m) entre 11,5 - 14°C, para luego permanecer homogénea a mayores profundidades (<25m) con 11°C. Para el golfo de Ancud, las temperaturas superficiales reportadas en primavera fueron de 12°C para luego cambiar a 11°C en aguas más profundas. Desde el golfo de Ancud hasta golfo de Corcovado se observó una columna homotermal desde superficie al fondo, con temperaturas que osilaron a los 11°C. Para el sector de boca del Guafo la columna del agua mostró una estratificación con temperaturas que flucturaron entre 12°C en superficie y 9°C en el fondo (Carrasco & Silva, 2010) (Figura 17). Estudios más recientes han reportado rangos de temperatura con patrones similares de profundidad durante meses de primavera (Octubre-Noviembre). Para el sector de Quellón se registraron valores que van desde 10,5 a 10,7°C y entre Calbuco e Isla Alao se han reportado valores que fluctuaron entre 10,6 a 11,2°C (IFOP, 2013).

Salinidad

Debido a la influencia de sistemas fluviales en la zona, se han registrado bajos valores de salinidad para el seno de Reloncaví (28,5 psu), con una marcada haloclina en los primeros 10 m. A medida que se avanza hacia el sur, la salinidad superficial registra un aumento de 33 psu en el golfo de Corcovado (sin presencia de haloclina). Bajo lo 20 m de profundidad la salinidad se ha mostrado bastante uniforme, siendo el golfo de Corcovado levemente más salino, en el orden de 1 psu (Silva et al., 1995).

Carrasco y Silva (2010) reportaron salinidades entre 29,9 a 32,9 psu entre el seno de Reloncaví y boca del Guafo durante el periodo de invierno en el año 2004, registrándose los menores valores de salinidad en seno de Reloncaví (Figura 16). En tanto, durante el periodo de primavera, para el mismo sector, fueron reportados valores de salinidad entre 28,9 y 32,8 psu, con la misma tendencia, menores valores registrados en seno de Reloncaví y los mayores en el golfo de Corcovado (Figura 17). Estudios más recientes han reportado que la salinidad para el sector centro norte, comprendido entre Calbuco e Isla Alao, fueron similares entre aguas superficiales y profundas, con valores de 31,2 a 32,8 psu. De igual modo para el sector sur de Chiloé (Quellón) se reportaron oscilaciones que no variaron entre la superficie y el fondo marino, con valores entre 33,5 a 33,6 (IFOP, 2013).

Oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto reportado durante el año 1995 para la región de Los Lagos muestran que las mayores concentraciones se encuentran en la capa superficial del seno de Reloncaví y golfo de Ancud, con valores superiores a 7 mL/L (120%, valor de saturación). En cambio, para el golfo Corcovado el oxígeno disuelto no sobrepasó los 5 mL/L (80%, valor de saturación). Dentro del sector norte (específicamente seno de Reloncaví), se ha registrado que bajo los 30 m de profundidad se encuentra un mínimo de oxígeno disuelto < 4 mL/L, aumentando ligeramente a mayores profundidades. De igual modo, para la zona de golfo Corcovado, se han detectado zonas con bajo oxígeno disuelto <4 mL/L (Silva et al., 1995).

Carrasco y Silva (2010) reportaron para el periodo invernal del año 2004 concentraciones de oxígeno disuelto superficial entre 5,0 y 7,6 mL/L (78 y 119% de saturación respectivamente), para la zona entre el seno de Reloncaví y golfo de Corcovado, con las mayores concentraciones en seno de Reloncaví, para luego disminuir a mayores latitudes. La concentración de oxígeno disuelto para la zona comprendida entre seno de Reloncaví y golfo de Ancud reportaron fluctuaciones entre los 7 mL/L en superficie y 4 mL/L en profundidad. Para el sector del golfo de Corcovado la columna de agua registró una estratificación con valores entre 3 y 6 mL/L (>47 y 94% de saturación, respectivamente) (Figura 16). El oxígeno disuelto para primavera de ese mismo año 2004 reportó en superficie concentraciones de oxígeno que fluctuaron entre los 6,0 y 7,6 mL/L (97 y 127% de saturación, respectivamente), con las menores concentraciones en golfo de Corcovado (Figura 17). Estudios más recientes comprendidos entre el sector de Calbuco y Quellón han registrado concentraciones de oxígeno disuelto con patrones similares en el rango de variación (6 a 7 mg/L de O₂ , en Quellón y 6 a 9 mg/L de oxígeno en Calbuco e Isla Alao) (IFOP, 2013).

En los últimos años se ha reportado un incremento de condiciones anaeróbicas en el fondo marino para las regiones de Los Lagos y Aysén (\leq 2mg/L de oxígeno disuelto), situación que ha sido registrada por SUBPESCA (2016) desde el año 2011 hasta el 2014. No obstante, esta tendencia de condición anaeróbica en el fondo

marino ha ido decreciendo para la X región de Los Lagos, con respecto a la XI región de Aysén. La región de Los Lagos ha registrado valores bajos de oxígeno en zonas como Estuario de Reloncaví y algunos sectores de Hualaihué (provincia de Palena) (SUBPESCA, 2016).

pH

El pH para la región de Los Lagos registrado entre los años 2009 y 2014 muestran valores promedios anuales que fluctúan alrededor de 7,3 unidades de pH, con tendencia a una estabilidad temporal. El estuario de Reloncaví ha sido la zona con más bajo pH en la región, así como también algunas comunas de Isla de Chiloé (Ancud, Quemchi, Quellón y Chaiten) (SUBPESCA, 2016).

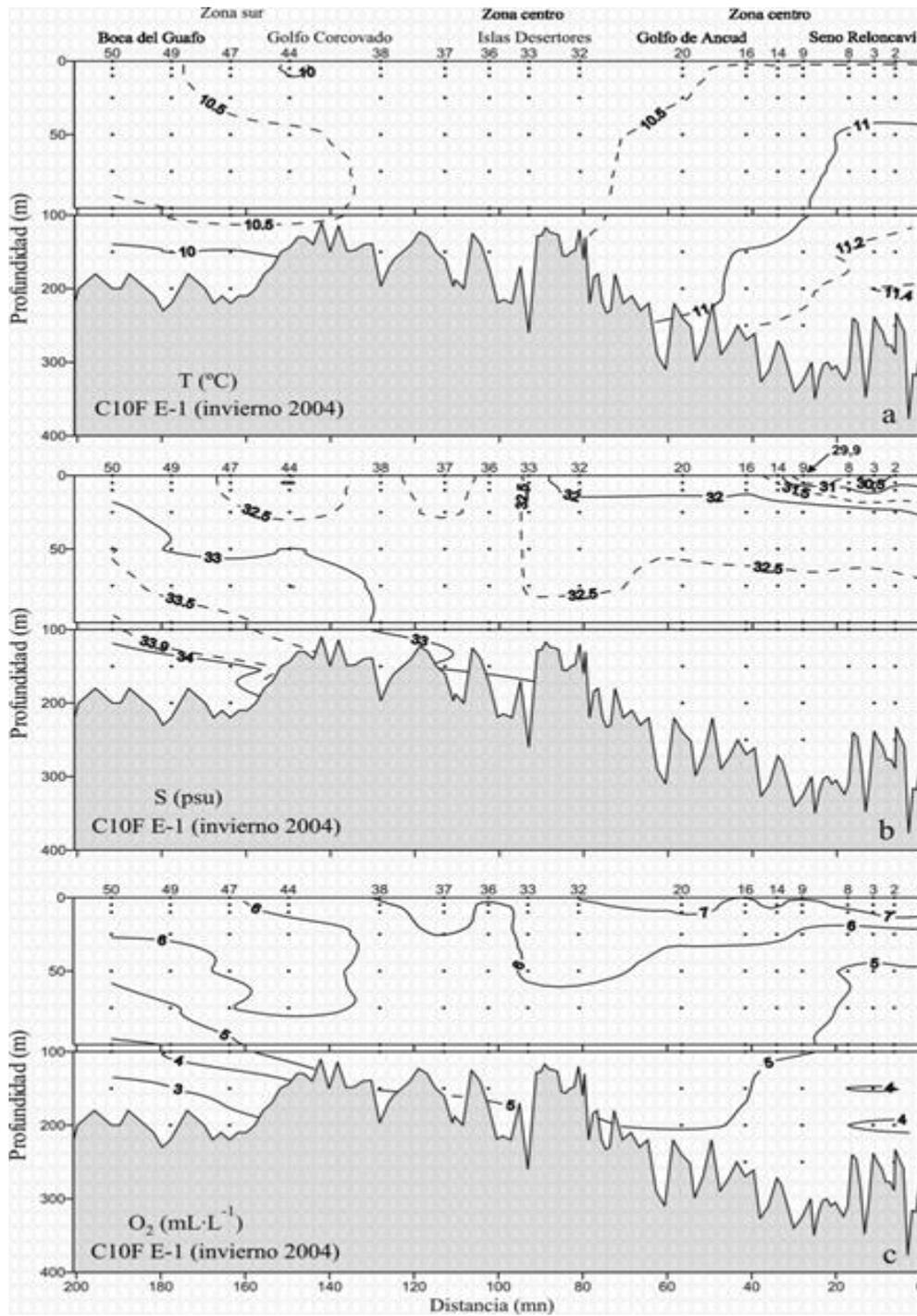


Figura 16. Distribución vertical de a) temperatura, b) salinidad y c) oxígeno disuelto en la sección seno Reloncaví, golfo de Ancud, golfo Corcovado y boca del Guafo. Crucero CIMAR 10 Fiordos, etapa de invierno 2004.

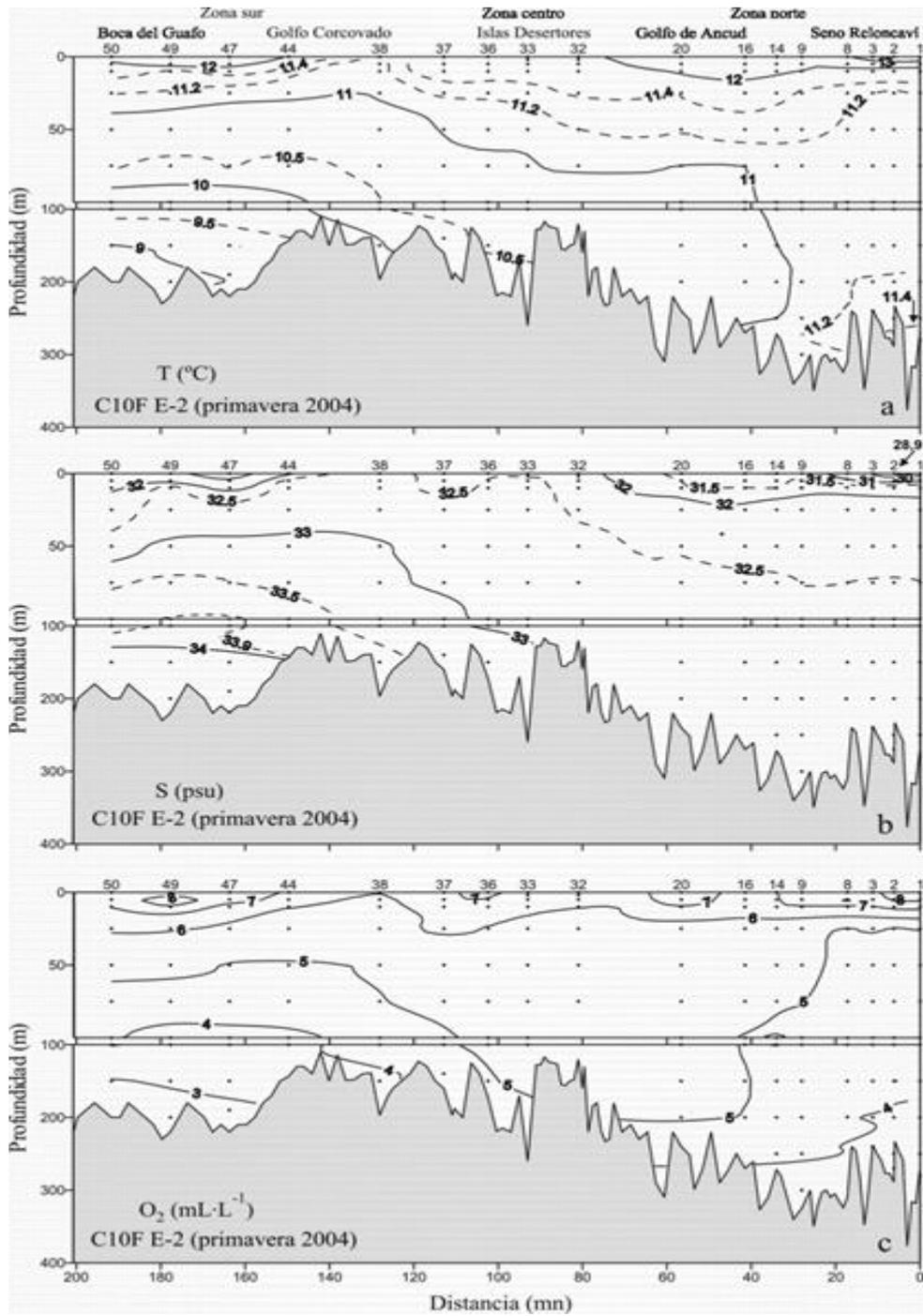


Figura 17. Distribución vertical de a) temperatura, b) salinidad y c) oxígeno disuelto en la sección seno Reloncaví, golfo de Ancud, golfo Corcovado y boca del Guafo. CIMAR 10 Fiordos, etapa de primavera 2004.

Sedimentos

Considerando un área de estudio que comprende entre la ciudad de Puerto Montt y Boca del Guafo (43°40'S) se ha reportado que la textura de sedimento superficial se encuentra mayoritariamente compuesto por arena (2-0,063 mm) y limo-arcilla (<0,063 mm). La mayor proporción de arenas se encuentra en zonas como seno de Reloncaví y golfo de Ancud, mientras que para el golfo Corcovado y Boca del Guafo se caracteriza por presentar sedimentos con textura areno-limosa (Silva & Astorga, 2010).

Para el sector comprendido entre Calbuco-Dalcahue se ha descrito que los sedimentos presentan una textura mayoritariamente de arena. Por otro lado, sectores centro-sur de la Isla de Chiloé (Dalcahue-Quellón) han registrado sedimentos con características arenosas y limo-arcilla (Silva & Astorga, 2010).

En base al registro y compilación de Silva y Astorga (2010) desde los cruceros CIMAR 10 Fiordos (2004), CIMAR 11 Fiordos (2005) y CIMAR 12 Fiordos (2006), se reporta una composición química de sedimento con altas concentraciones de materia orgánica total (MOT >5,0%) y carbono orgánico (CO >1,6 %) particularmente en zonas del seno de Reloncaví, Golfo de Ancud y en mares interiores de Chiloé (Dalcahue-Quinchao; Castro-Lemuy; Compu-Queilen y Quellón-Laitec), mientras que sectores localizadas en el golfo Corcovado y Boca del Guafo las concentraciones fueron menores (MOT<5,0%; CO<1,6%). Una explicación a este comportamiento está dado por el mayor aporte de materia orgánica autóctona hacia el fondo marino a través de procesos productivos en la columna de agua, principalmente en regiones costeras. Altas concentraciones de clorofila *a* (> 100 mg m⁻²) se han reportado para zonas como seno de Reloncaví y Golfo de Ancud, mientras que para el sector de golfo Corcovado han sido registradas bajas concentraciones de clorofila *a* (Silva et al., 1998; Silva et al., 2010). Por otro lado, Silva et al. (2010) sugiere, como una primera aproximación, que zonas como Castro, Dalcahue, Lemuy, golfo de Ancud y golfo de Corcovado son cuerpos de agua que además de aporte autóctono también presentan un importante aporte alóctono (terráqueo).

Para estudios granulométricos en sitios comprendidos entre la ciudad de Calbuco y Quellón se ha reportado que la granulometría característica de estas zonas presenta una fracción principalmente de arenas (93 a 97%), seguido por fangos (4 a 6%) y grava (0,4 a 1,4%), con un porcentaje de materia orgánica que no supera el 2,8% (IFOP, 2013).

Evaluaciones realizadas por SUBPESCA (2016) con respecto a la proporción de fangos en la X región, debido a la mayor probabilidad de sufrir enriquecimiento orgánico en este tipo de sedimento, han reportado que entre los años 2009 – 2014 ha existido una tendencia a incrementar la fracción de fangos en la región. No obstante, durante los mismos años (2009-2014), los porcentajes de materia orgánica que se han registrado en la zona se han mantenido en un rango de 2 a

3%, sin una clara tendencia a incrementar o disminuir en el fondo marino (SUBPESCA, 2016).

Fitoplancton

Estudios han reportado el amplio predominio de diatomeas para la zona comprendida entre Puerto Montt y Boca del Guafo durante primavera y verano del año 2005 (CONA C11F 05-01). Aquí fueron identificadas 62 especies de diatomeas, 27 de dinoflagelados y 1 de silicoflagelados. Las especies más comunes en el área de estudio fueron las diatomeas: *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros lorenzianus*, *Stephanopyxis nipponica*, *Thalassiosira cf. mendiolana*, *Thalassionema frauenfeldii*, *T. nitzschioides* y los dinoflagelados *Ceratium tripos* y *C. furca*, en invierno. Por otro lado, las diatomeas *Pseudo-nitzschia cf. delicatissima*, *P. cf. australis*, *Rhizosolenia setigera* y los dinoflagelados *Diplopsalis lenticula*, *Protoperidinium brochii* y *Ceratium fusus var. seta* dominaron en primavera. Durante esta campaña también fueron registradas especies tóxicas, pero en muy bajas concentraciones y de manera aislada (Valenzuela & Avaria, 2009).

Para aquellos sectores con influencia de aguas continentales se observan notorios cambios en la composición de algunos taxones en comparación a zonas con influencia oceánica. Por ejemplo, en la cabeza del estero Reloncaví se observaron diatomeas de agua dulce tales como *Melosira moniliformis*, *M. roeseana*, *Cyclotella sp.*, entre otras, mientras que para la boca del Guafo se reportaron mayor concentración de dinoflagelados y diatomeas (Valenzuela & Avaria, 2009).

A pesar de la variabilidad estacional de las especies dominantes entre invierno y primavera, en general se ha observado que en ambas épocas existe una mayor influencia de diatomeas r-estrategas, de pequeño tamaño y alta tasa de división (Avaria, 2008).

4.2.1. Piretroides (otros antecedentes)

Comportamiento en el ambiente

Los piretroides se caracterizan por ser altamente lipofílicos, pero con una corta vida media (tiempo necesario para que el compuesto alcance la mitad de su concentración inicial en el ambiente). Esta baja persistencia en el ambiente puede deberse a diversos procesos tales como reacciones fotoquímicas y de oxidación. Estudios han sugerido que bajo condiciones aeróbicas y bajo pH estos piretroides pueden presentar una rápida degradación en el ambiente, en comparación a condiciones de bajo oxígeno y alta alcalinidad en agua de mar (SEPA, 1998; Schleier & Peterson, 2011). Por otro lado, la temperatura es un factor que determina la toxicidad de piretroides tipo II (cipermetrina y deltametrina) sobre organismos, encontrándose en algunos casos positivamente correlacionada con la temperatura (Schleier & Peterson, 2011).

Estudios de campo

A través de un estudio en campo realizado por Medina et al. (2004) se pudo observar mediante experimentos en mesocosmos que la comunidad zooplanctónica presenta efectos negativos frente a la exposición de cipermetrina, afectando principalmente su densidad y biodiversidad. Este estudio fue realizado en Escocia bajo condiciones de temperatura que fluctuaron entre 13-14°C, oxígeno disuelto de 8-9 mg/L, un pH entre 7,8-8,1 y salinidad de 25 psu. De manera contraria, Willis et al. (2005) determinaron que tratamientos con la formulación Exis[®] (cipermetrina) no fue posible observar efectos adversos sobre la comunidad zooplanctónica, luego de un largo periodo de muestreo (31 meses) en un área estuarina de Escocia.

4.2.2. Azametifos (otros antecedentes)

Comportamiento en el ambiente

El compuesto orgánico azametifos se caracteriza por ser soluble en agua y tener poca afinidad por la fase orgánica, debido a su bajo coeficiente de reparto octanol-agua ($\log K_{ow}=1,05$). De esta manera, sus propiedades le otorgan una mayor probabilidad de permanecer en la fase acuosa y baja posibilidad de acumularse en tejidos y/o sedimento. Este organofosforado en el ambiente puede descomponerse por hidrólisis presentando una vida media de aproximadamente 8,9 días (Haya et al., 2005). Estudios de dispersión han demostrado que luego de una emisión de 200 µg/L de azametifos hacia el sistema marino este presentaría una rápida degradación, detectándose luego de un corto periodo de emitido el producto,

concentraciones en el orden de 0,1 µg/L. Además se sugiere que este producto fue solamente detectado en agua superficial (0 a 10 m de profundidad) (Burrige, 2013).

Bioacumulación

Azametifos es poco bioacumulable en salmones, presentando una rápida degradación (EMEA, 1999; EMEA, 2012). Mediante un estudio con ¹⁴C-azametifos se pudo observar que este compuesto presenta una rápida disminución en tejidos como musculo, hígado y piel. En músculo se pudo determinar que a partir de una concentración de tratamiento en salmones de 0,2 mg/Kg los residuos de azametifos en este tejido alcanzarían a una concentración de 20 µg/Kg, luego de 1 hora finalizado el tratamiento, hasta alcanzar concentraciones en el orden de 4 µg/Kg después de 12 horas. Por otro lado en la piel, se pudo observar que azametifos presentaría una disminución de 7 veces la concentración inicial (de 117 a 16 µg/Kg), luego de 12 horas finalizado el tratamiento. En este estudio la temperatura del agua durante el tratamiento de salmones estuvo en el rango de 11 a 13°C. Posteriormente, azametifos fue analizado luego de 1, 2, 3 y 7 días entregando resultados bajo el límite de detección (LD=20 µg/Kg) (EMEA, 2012).

En mamíferos se ha observado que azametifos presenta una buena absorción luego de ser administrado oralmente, pero es rápidamente metabolizado y excretado. Por ejemplo, estudios en ratas han demostrado que luego de una administración de ¹⁴C-azametifos (dosis de 5 mg/Kg) los porcentajes de recuperación del compuesto radioactivo fueron principalmente de 41% en la orina, 4% en fecas y 35% por el aire expirado, todo esto luego de 24 horas administrada la dosis (EMEA, 1999).

4.3. Localización y antecedentes de centros de cultivo

4.3.1. Primera campaña (Primavera-Verano)

A continuación en Tabla 5 se muestran las variables ambientales del área de estudio, los compuesto antiparasitarios utilizado en el tratamiento de salmones y características de los centros de cultivo monitoreados durante la primera campaña primavera-verano. Detalles de las fechas de monitoreo en agua, sedimento, corrientes, biota y muestreadores pasivos se muestran en anexo II.

Tabla 5. Características e información detallada para cada centro de cultivo muestreado durante la primera campaña primavera verano.

Datos ambientales	Centros de cultivos		
	Quinchao	Chillidque	Lille 2
Barrio (ACS)	10A	8	12A
Velocidad corriente (cm/s)	8	8	11
Dirección de corriente	NE-SE/NW	NW	NE
Profundidad zona (m)	40	80	50
Temperatura (°C)	11	11	13
Salinidad (PSU)	32	32	33
Químico			
Inicio del tratamiento	08-nov-14	13-nov-14	16-dic-14
Antiparasitario	Deltametrina	Cipermetrina	Azametifos
Formulación	Deltafav®	Betamax®	Byelice®
Dosis (producto comercial)	0,3 mL/m ³	0,3 mL/m ³	200 mg/m ³
Cultivo			
Dimensión jaulas (m)	20x20x16	30x30x20	30x30x15
Número de jaulas tratadas	8	16	22
Código centro	101888	102053	102159
Especie	Salmón Atlántico	Salmón Atlántico	Salmón Pacífico/Coho
Categoría del centro	Reproductor	Engorda	Engorda

Durante esta primera campaña se colectaron muestras control (agua y sedimento) en el sector de Quicaví, comuna de Quemchi (coordenadas: 42° 16' 41,47''S y 73° 21' 02,71''O). La profundidad promedio en el área control fue de 20 m. Estas muestras control representan a los 3 centros de cultivo monitoreados en esta campaña. La declaración del número total de muestras colectadas y analizadas durante la campaña primavera-verano se muestran en anexo II.

4.3.1.1. Coordenadas geográficas de cada punto de muestreo.

Centro Quinchao.

Ubicación: Comuna de Dalcahue (Curaco de Vélez)

Coordenadas: 42° 25'42.54" S; 73° 37'19.08" O.

En Figura 18 y Tabla 6 se muestra en detalle la ubicación de los distintos puntos de monitoreo para agua y sedimento durante la campaña primavera-verano en el centro de cultivo Quinchao.



Figura 18. Área de muestreo para centro de cultivo Quinchao. C3 corresponde a la identificación del centro; los números 100 y 500 representan la distancia aproximada al centro de cultivo, y las letras A, B, C, D la orientación en la toma de muestras.

Tabla 6. Coordenadas geográficas para cada punto de muestreo en el centro de cultivo con aplicación del antiparasitario deltametrina, campaña primavera-verano.

Área de estudio	Coordenadas geográficas	
	Latitud	Longitud
Centro Quinchao		
C3 100 A	42°25'42.36"S	73°37'17.70"O
C3 500 A	42°25'35.65"S	73°37'25.62"O
C3 500 B	42°25'49.96"S	73°37'21.67"O
C3 100 C	42°25'57.88"S	73°36'59.14"O
C3 500 C	42°26'0.45"S	73°36'47.74"O
C3 500 D	42°25'42.55"S	73°37'2.92"O

Centro Chillidque.

Comuna: Quemchi (Quicaví).

Coordenadas: 42° 18'25.36" S; 73° 18'25.63" O.

En Figura 19 y Tabla 7 se muestra en detalle la ubicación de los distintos puntos de monitoreo para agua y sedimento durante la campaña primavera-verano en el centro de cultivo Chillidque.



Figura 19. Área de muestreo para centro de cultivo Chillidque. C2 corresponde a la identificación del centro; los números 100 y 500 representan la distancia aproximada al centro de cultivo, y las letras A, B, C, D la orientación en la toma de muestras.

Tabla 7. Coordenadas geográficas para cada punto de muestreo en el centro de cultivo con aplicación del antiparasitario cipermetrina, campaña primavera-verano.

Área de estudio	Coordenadas geográficas	
	Latitud	Longitud
Centro Chillidque		
C2 100 A	42°18'23.92"S	73°18'35.78"O
C2 500 A	42°18'21.06"S	73°18'39.89"O
C2 500 B	42°18'30.27"S	73°18'38.72"O
C2 100 C	42°18'31.54"S	73°18'20.04"O
C2 500 C	42°18'33.23"S	73°18'13.37"O
C2 500 D	42°18'20.55"S	73°18'26.01"O

Centro Lille 2.

Comuna: Quellón.

Coordenadas: 43° 10' 33.44" S; 73° 37' 59.52" O.

En Figura 20 y Tabla 8 se muestra en detalle la ubicación de los distintos puntos de monitoreo para agua y sedimento durante la campaña primavera-verano en el centro de cultivo Lille 2.



Figura 20. Área de muestreo para centro de cultivo Lille 2. C1 corresponde a la identificación del centro; los números 100 y 500 representan la distancia aproximada al centro de cultivo, y las letras A, B, C, D la orientación en la toma de muestras.

Tabla 8. Coordenadas geográficas para cada punto de muestreo en el centro de cultivo con aplicación del antiparasitario azametifos, campaña primavera-verano.

Área de estudio	Coordenadas geográficas	
	Latitud	Longitud
Centro Lille 2		
C1 100 A	43°10'24.74"S	73°37'53.88"O
C1 500 A	43°10'20.09"S	73°37'47.80"O
C1 500 B	43°10'27.08"S	73°38'8.93"O
C1 100 C	43°10'41.07"S	73°38'6.79"O
C1 500 C	43°10'46.85"S	73°38'9.36"O
C1 500 D	43°10'37.10"S	73°37'48.14"O

4.3.2. Segunda campaña (Otoño-Invierno)

A continuación se muestra en Tabla 9 algunos detalles de datos ambientales en el área de estudio, tipo de compuesto antiparasitario utilizado como tratamiento en salmones y características de los centros de cultivo monitoreados durante la segunda campaña otoño-invierno. Detalles de las fechas de monitoreo en agua, sedimento, corrientes, biota y muestreadores pasivos se muestran en anexo II.

Tabla 9. Características e información detallada para cada centro de cultivo muestreado durante la segunda campaña otoño-invierno.

Datos ambientales	Centros de cultivos		
	Puerto Haro	Punta Lucu	Paso Quenu
Barrio (ACS)	10B	10B	3B
Velocidad de corriente (cm/s)	3-5	18-21	5-13
Dirección de corriente	SO	SO-N	SE-E
Profundidad zona (m)	80	70	30
Temperatura (°C)	12	11	11,5
Salinidad (PSU)	33	32-33	32
Químico			
Inicio del tratamiento	10-Abril-2015	25-Abril-2015	6-julio-2015
Antiparasitario	Deltametrina	Azametifos	Cipermetrina
Formulación	Deltafav®	Byelice®	Betamax®
Dosis (producto comercial)	0,3 mL/m ³	200 mg/m ³	0,3 mL/m ³
Cultivo			
Dimensión jaulas (m)	15x15x12	30x30x12	30x30x14
Número de jaulas tratadas	8	12	26
Código centro	100619	102963	101292
Especie	Salmon coho/trucha	Salmón atlántico	Salmón atlántico
Categoría del centro	Reproductor	Engorda	Engorda

Durante esta segunda campaña se colectaron muestras control (agua y sedimento) en el sector de Isla Caicaén, comuna de Calbuco (coordenadas: 41° 48' 31,79"S y 73° 09' 17,37"O). La profundidad promedio en el área control fue de 18 m. Estas muestras control representan a los 3 centros de cultivo monitoreados en esta campaña. La declaración del número total de muestras colectadas y analizadas durante la campaña otoño-invierno se muestran en anexo II.

4.3.2.1. Coordenadas geográficas de cada punto de muestreo.

Centro Puerto Haro.

Ubicación: Comuna de Puqueldón (Isla Lemuy).

Coordenadas: 42° 39' 59.23" S; 73° 37' 50.16" O.

En Figura 21 y Tabla 10 se muestra en detalle la ubicación de los distintos puntos de monitoreo para agua y sedimento durante la campaña otoño-invierno en el centro de cultivo Puerto Haro.



Figura 21. Área de muestreo para centro de cultivo Puerto Haro. C3 corresponde a la identificación del centro; los números 100 y 500 representan la distancia aproximada al centro de cultivo, y las letras A, B, C, D la orientación en la toma de muestras.

Tabla 10. Coordenadas geográficas para cada punto de muestreo en el centro de cultivo con aplicación del antiparasitario deltametrina, campaña otoño-invierno.

Área de estudio	Coordenadas geográficas	
	Latitud	Longitud
Centro Puerto Haro		
C3 100 A	42°38'56.80"S	73°37'58.76"O
C3 500 A	42°38'51.54"S	73°38'8.35"O
C3 500 B	42°39'9.19"S	73°38'10.76"O
C3 100 C	42°39'3.05"S	73°37'41.45"O
C3 500 C	42°39'6.37"S	73°37'32.42"O
C3 500 D	42°38'48.59"S	73°37'30.90"O

Centro Punta Lucu.

Ubicación: Comuna de Puqueldón (Isla Lemuy).

Coordenadas: 42° 37' 33. 13" S; 73° 44' 42.41" O.

En Figura 22 y Tabla 11 se muestra en detalle la ubicación de los distintos puntos de monitoreo para agua y sedimento durante la campaña otoño-invierno en el centro de cultivo Punta Lucu.



Figura 22. Área de muestreo para centro de cultivo Punta Lucu. C1 corresponde a la identificación del centro; los números 100 y 500 representan la distancia aproximada al centro de cultivo, y las letras A, B, C, D la orientación en la toma de muestras.

Tabla 11. Coordenadas geográficas para cada punto de muestreo en el centro de cultivo con aplicación del antiparasitario azametifos, campaña otoño-invierno.

Área de estudio	Coordenadas geográficas	
	Latitud	Longitud
Centro Punta Lucu		
C1 100 A	42°37'23.83"S	73°44'41.26"O
C1 500 A	42°37'13.53"S	73°44'44.77"O
C1 500 B	42°37'34.53"S	73°45'6.95"O
C1 100 C	42°37'43.91"S	73°44'40.62"O
C1 500 C	42°37'54.38"S	73°44'40.43"O
C1 500 D	42°37'34.39"S	73°44'33.79"O

Centro Paso Quenu

Ubicación: Comuna de Calbuco (Isla Caicaén).

Coordenadas: 41° 48' 35. 32" S; 73° 09' 56.94" O.

En Figura 23 y Tabla 12 se muestra en detalle la ubicación de los distintos puntos de monitoreo para agua y sedimento durante la campaña otoño-invierno en el centro de cultivo Paso Quenu.



Figura 23. Área de muestreo para centro de cultivo Paso Quenu. C1 corresponde a la identificación del centro; los números 100 y 500 representan la distancia aproximada al centro de cultivo, y las letras A, B, C, D la orientación en la toma de muestras.

Tabla 12. Coordenadas geográficas para cada punto de muestreo en el centro de cultivo con aplicación del antiparasitario cipermetrina, campaña otoño-invierno.

Área de estudio	Coordenadas geográficas	
	Latitud	Longitud
Centro Paso Quenu		
C1 100 A	41°48'38.60"S	73°10'4.45"O
C1 500 A	41°48'41.28"S	73°10'9.97"O
C1 500 B	41°48'41.64"S	73° 9'51.25"O
C1 100 C	41°48'32.54"S	73° 9'53.04"O
C1 500 C	41°48'29.37"S	73° 9'50.06"O
C1 500 D	41°48'25.56"S	73°10'2.84"O

4.4. Muestreadores Pasivos

4.4.1 Calibración

Durante la calibración de los DMP, 10 filtros cubiertos con el polímero EVA fueron expuestos durante 15 días a un rango de compuestos de referencia (CR) (anexo II). Estos CR presentaron un logaritmo del coeficiente de reparto octanol-agua ($\log K_{ow}$) entre 3 y 6. Se pudo estimar durante la calibración en laboratorio una tasa de muestreo (R_s) de aproximadamente 0,72 L/d, un volumen promedio de Eva (V_s) en cada filtro de 0,000058 L y un espesor aproximado entre 5-7 μm . El logaritmo del coeficiente de reparto EVA-agua ($\log K_{eva-w}$) fue correlacionado con el $\log K_{ow}$ de cada uno de los CR, observándose una buena correlación ($R^2= 0,661$) entre estos parámetros (Figura 24). Así, utilizando la ecuación lineal (2) se estimó el $\log K_{eva-w}$ para cada uno de los antiparasitarios. Los resultados fueron los siguientes: **cipermetrina= Log K_{eva-w} de 6,2; deltametrina= Log K_{eva-w} de 5,8; y azametifos= Log K_{eva-w} de 1,6.**

$$\text{Log } K_{eva-w} = 0.825 \text{ Log } K_{ow} + 0.746 \quad (2)$$

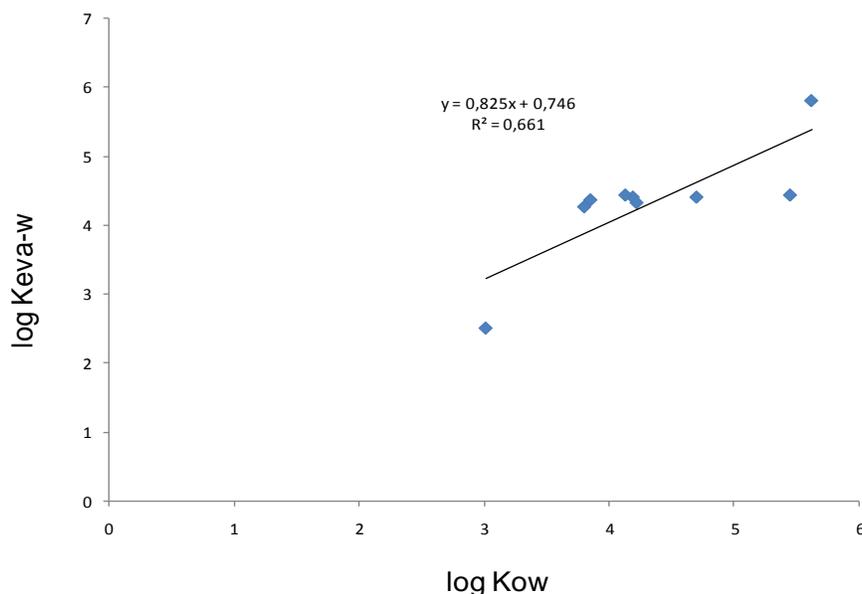


Figura 24. Correlación entre el coeficiente de reparto octanol-agua ($\log K_{ow}$) y el coeficiente de reparto EVA-agua ($\log K_{eva-w}$) para cada uno de los compuestos de referencia utilizados en la calibración del polímero EVA.

4.4.2. Concentración de antiparasitario en muestreadores pasivos

En Figura 25 se muestran las concentraciones detectadas por el polímero acetato de vinil etileno (EVA) luego de un periodo de exposición de 7 días en los distintos sitios de estudio. De los centros de cultivo estudiados fue posible detectar compuestos hidrofóbicos (o apolares) como fueron los piretroides cipermetrina y deltametrina ($\log K_{ow} > 4$). Por el contrario, el medicamento azametifos no fue detectado en el ambiente marino, probablemente por sus características mayormente hidrofílicas (bajo coeficiente de partición octanol/agua, $\log K_{ow} = 1,05$), lo cual no permitió ser absorbido por el polímero EVA (ver propiedades físico-químicas de medicamentos antiparasitarios en Tabla 1 y 2).

Durante la campaña primavera-verano en el centro de cultivo Chillidque se detectó una concentración promedio en agua de $3,4 (\pm 1,8; n=7)$ ng L⁻¹ del antiparasitario cipermetrina (Figura 25), siendo la concentración más alta detectada en el lado D de $13,6$ ng L⁻¹. En cuanto a los muestreadores desplegados a mayor distancia de las jaulas se logró detectar una concentración promedio de $1,2 (\pm 0,6; n=2)$ ng L⁻¹ para el medicamento antiparasitario cipermetrina.

Por otro lado, para el centro de cultivo Quinchao (campaña primavera-verano), donde los tratamientos fueron realizados con el antiparasitario deltametrina, se detectó una concentración promedio de $1,1 (\pm 0,4; n=5)$ ng L⁻¹, con una concentraciones máxima alrededor de balsas jaulas de $2,43$ ng L⁻¹ (Lado C) y $1,3$ (Lado A), dejando en evidencia el dominio de la dirección de corrientes en el sitio de estudio. Para los DMP desplegados a mayor distancia (pontón) fue posible detectar una concentración de $0,65$ ng L⁻¹ del piretroide (Figura 25).

Para el centro de cultivo Lille 2, con aplicación de azametifos durante la campaña primavera-verano, no fue posible detectar las concentraciones del producto en agua, encontrándose bajo los límites de detección.

Durante la campaña otoño-invierno en el centro de cultivo Puerto Haro se logró detectar una concentración promedio en agua de $2,2 (\pm 1,2; n=3)$ ng L⁻¹ del antiparasitario deltametrina (Figura 25), con concentraciones máximas en el área de estudio de $4,3$ ng L⁻¹ (Lado D) y $3,2$ ng L⁻¹ (Lado B). La concentración más baja colectada por los DMPs se localizó en la orientación C con un nivel en agua de $0,12$ ng L⁻¹. En cuanto a los muestreadores desplegados en el pontón no fue posible detectar deltametrina en agua.

Por otro lado, para el centro Paso Quenu y Punta Lucu, no se pudo estimar los compuestos antiparasitarios cipermetrina y azametifos, respectivamente, encontrándose bajo los límites de detección.

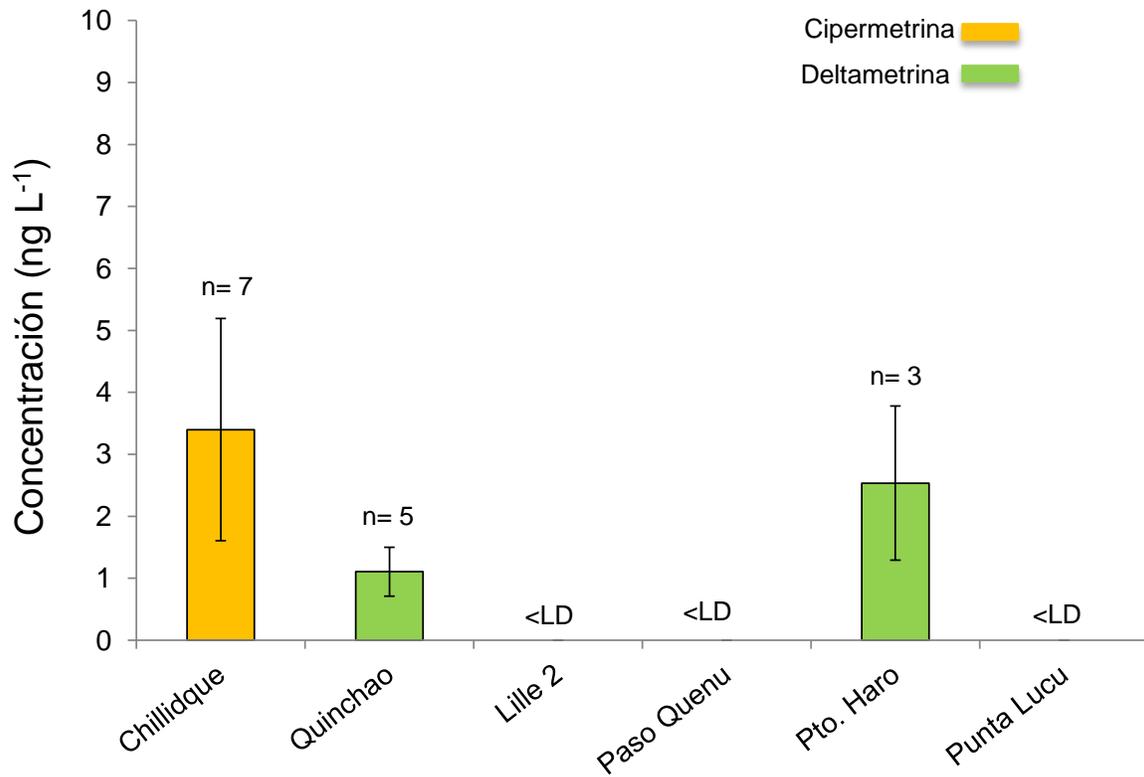


Figura 25. Concentración promedio (\pm Error Std) de medicamentos antiparasitarios detectada por el dispositivos de muestreo pasivo EVA.

4.5. Detección de antiparasitarios en el ambiente

4.5.1. Piretroides

Cipermetrina

Con respecto a los análisis de Cipermetrina la curva de calibración muestra un rango lineal que va desde los 40 hasta los 100 ppb ($\mu\text{g/L}$), presentando, al igual que azametifos, poca estabilidad a bajas concentraciones, obteniendo límites de detección de $117,3 \mu\text{g/L}$ y un límite de cuantificación de $374,0 \mu\text{g/L}$. En relación a las recuperaciones realizadas para cada matriz estudiada, los porcentajes se encuentran por sobre el 87%, alcanzando un máximo de 91,9% de recuperación para sedimentos.

En relación a la determinación de Cipermetrina en las diversas matrices ambientales (agua, sedimento y organismos), se verificó que las concentraciones de este medicamento antiparasitario en agua no logró ser detectado, debido a que el método analítico no permitió detectar residuos, encontrándose las muestras bajo el límite de detección ($<L.D$). Por otro lado, para muestras de sedimento en las diferentes campañas se detectaron concentraciones promedios de Cipermetrina en Centro Chillidque (campaña primavera-verano) de $0,7 (\pm 1,1) \text{ ng/g}$ y Centro Paso Quenu (Campaña otoño-invierno) de $0,08 (\pm 0,1) \text{ ng/g}$ (Figura 26). Una concentración máxima de $1,48 \text{ ng/g}$ fue cuantificada en el centro de cultivo Chillidque a la distancia de 0 m de las balsas jaulas, previo al tratamiento con el producto químico (pretratamiento) (Figura 27).

Este piretroide no fue detectado en tejidos de mitílidos durante las dos campañas de este estudio. Todas las muestras de sus tejidos analizadas estuvieron bajo el límite de detección.

Deltametrina

Para el análisis de Deltametrina la curva de calibración muestra un rango lineal que va desde los 40 hasta los 100 ppb ($\mu\text{g/L}$) al igual que Cipermetrina, presentando, a diferencia de lo visto anteriormente, una mayor estabilidad a bajas concentraciones, obteniendo límites de detección de $21,9 \mu\text{g/L}$ y un límite de cuantificación de $61,5 \mu\text{g/L}$. Con respecto a las recuperaciones estas se encuentran por sobre el 70% alcanzando un máximo de 78,7% de recuperación para organismos filtradores.

En cuanto a los análisis de Deltametrina en las diversas matrices (agua, sedimento, organismos), no fue posible detectar este antiparasitario en la matriz agua para ambas campañas, encontrándose todas las muestras bajo el límite de detección. Para sedimento en cambio, fueron cuantificados niveles de Deltametrina con promedios de $1,55 (\pm 1,2) \text{ ng/g}$ y $1,12 (\pm 1,7) \text{ ng/g}$ para los centros Quinchao (campaña primavera-verano) y Puerto Haro (campaña otoño-invierno),

respectivamente (Figura 26). Durante el postratamiento en Centro Quinchao fue detectado en sedimento una concentración máxima de 4,67 ng/g a 100 m de distancia de las jaulas. Por otra parte, para centro Puerto Haro se detectó un máximo de 2,4 ng/g y 2,3 ng/g a 500 m de distancia a las jaulas durante los periodos pre y postratamiento, respectivamente (Figura 27).

Para las muestras de organismos filtradores, solo se determinaron concentraciones durante la campaña primavera-verano, con un valor máximo de 10,66 ng/g (Figura 27).

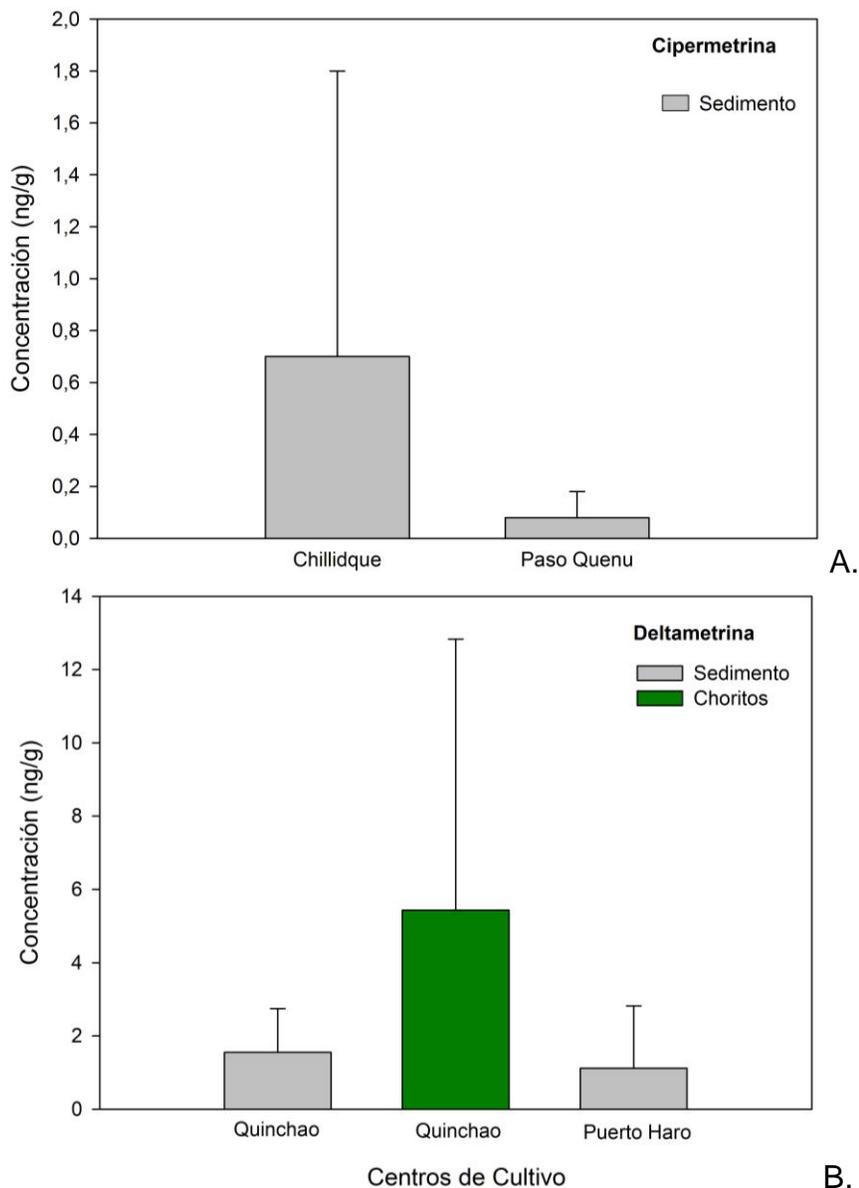


Figura 26. Concentración promedio \pm desviación estandar (ng/g) de Cipermetrina (A) y Deltametrina (B) en los diferentes Centros de cultivos muestreados durante las campañas primavera-verano y otoño-invierno. Gris: Sedimento; Verde: Choritos.

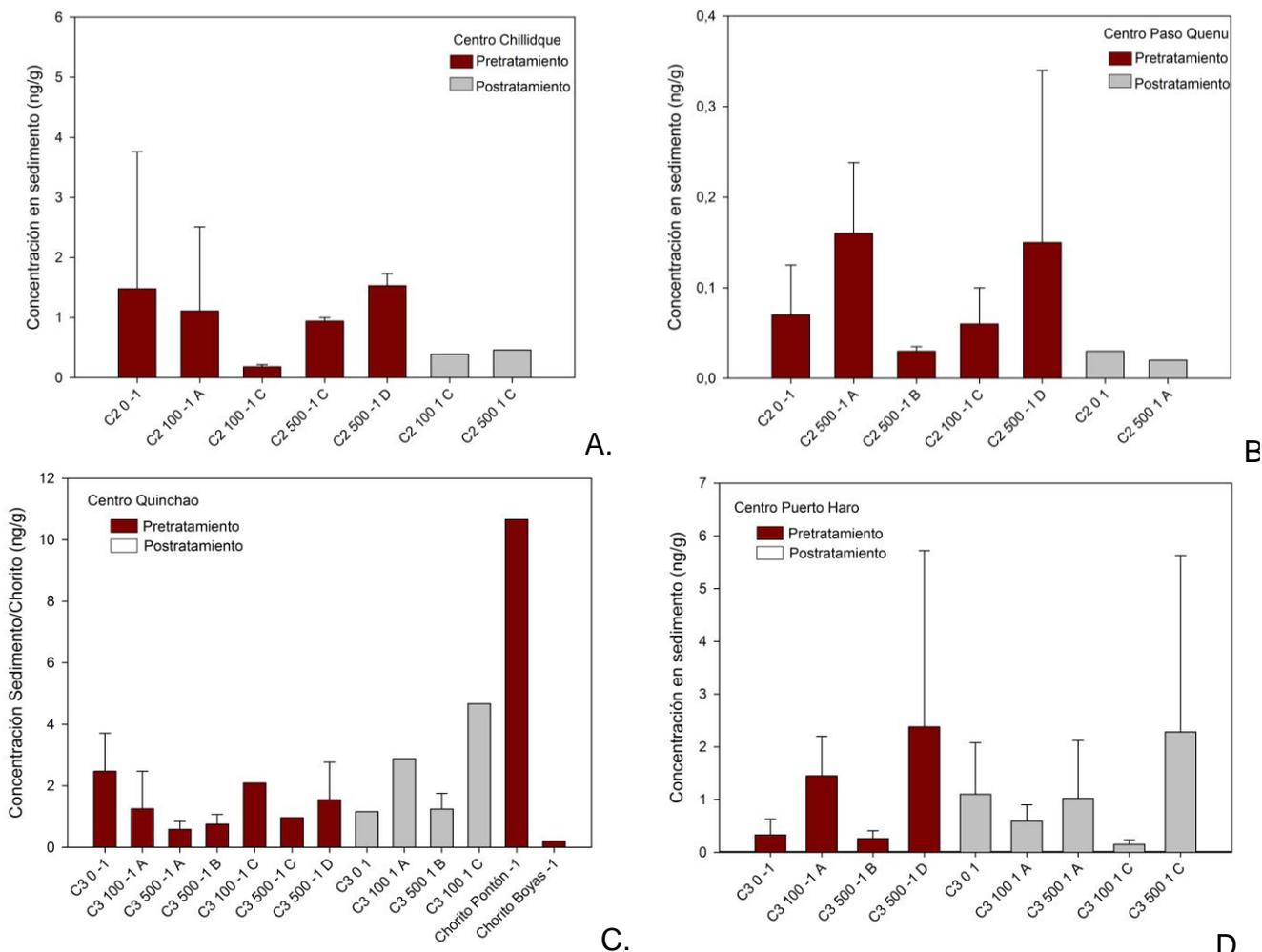


Figura 27. Concentración promedio (\pm DS, ng/g) de piretroides por cada tiempo y distancia muestreada durante las campañas primavera-verano (A y B) y otoño-invierno (C y D). Leyenda: C2, C3: identificación del centro de cultivo; 0, 100, 500: distancias; -1, 1: pretratamiento y postratamiento, respectivamente; A, B, C, D: orientación en la toa de muestra (ver punto 4.3).

4.5.1. Azametifos

Los resultados obtenidos para el análisis de muestras del antiparasitario Azametifos, entregó resultados analíticos para la curva de calibración de un rango lineal que va desde los 0,2 hasta los 100 ppm (mg/L), presentando poca estabilidad a bajas concentraciones, obteniendo límites de detección de 0,5 mg/L y un límite de cuantificación de 1,9 mg/L, mientras que para las pruebas de recuperación (en cada

matriz), estas se encuentran por sobre el 75%, alcanzando un máximo de casi 90% de recuperación, en lo particular para sedimentos.

En cuanto a la determinación de Azametifos en las diversas matrices (agua, sedimento, organismos) estos entregaron concentraciones por bajo el límite de detección (0,5 mg/L), para ambas campañas realizadas y para todas las matrices analizadas, por lo cual, no existen concentraciones asociadas a este antiparasitario. Sin embargo, de las muestras analizadas, de manera general, un pequeño número de muestras de agua resultaron ser positivas, es decir, se logra distinguir una respuesta del equipo al tiempo de retención del compuesto, diferenciándolo de la línea base, a pesar de esto, no es posible asociarle a un área bajo la distribución normal del peak generado.

4.6. Variables ambientales

Agua

Campaña primavera-verano 2014

En Tabla 13 se observa los datos de variables ambientales medidos en la columna de agua para los diferentes centros de cultivo monitoreados en la **campaña primavera-verano año 2014**. En dos de los centros (Lille 2 y Chillidque) se observa que la capa superficial es más cálida que la profunda, con ausencia de una capa de mezcla, para luego descender monótonicamente hacia el fondo, sin presentar inversiones. Éstas son principalmente el resultado del calentamiento superficial producto de la fluctuación anual de la radiación solar. En tanto en Quinchao se observa una homogeneidad de la temperatura, como resultado de una fuerte mezcla vertical que genera una columna prácticamente homotermal. Si bien se observa una salinidad más baja en la superficie esta no es significativa. Los resultados coinciden a lo observado en campañas realizadas por Cimar fiordo en zonas durante la misma estacionalidad (Silva et al., 1998), es decir, con presencia de aguas mezcladas y temperaturas que fluctúan entre los 10 y 12 °C.

Campaña Otoño-Invierno 2015

Los perfiles muestran condiciones de temperatura que fluctúan entre 11,5 a 12 °C en superficie, sin presentar cambios hacia aguas más profundas (sin presencia de una termoclina). Los centros de Puerto Haro y Punta Lucu tuvieron una concentración de oxígeno de 4,1 mL/L, en tanto el centro paso Quenu fue de 5,5 mL/L. Por otro lado, la densidad y salinidad se observaron dentro de rangos normales, solo cabe destacar la diferencia de salinidad entre la superficie y el fondo en el centro Punta Lucu, debido al aporte de agua dulce de las precipitaciones que ocurrieron durante la medición. La salinidad del agua fue levemente menor para el centro de cultivo Paso Quenu con una medición de 32 psu en comparación a los centros Puerto Haro y Punta Lucu con 33 psu. Para estos dos últimos centros se observaron patrones similares de variables ambientales debido a la proximidad geográfica entre uno y otro (Tabla 14).

Tabla 13. Variables ambientales correspondientes a las 3 centro de cultivo con tratamiento de antiparasitarios en campaña primavera-verano.

Centro de cultivo	Profundidad (m)	Temperatura (°C)	Oxigeno (ml/l)	Oxigeno (%)	Fluorescencia [mg/m ³]	pH	Salinidad [PSU]
Lille 2	2	13,232	6,79	113,709	4,688	8,263	33,045
	4	13,202	6,847	115,855	6,805	8,246	33,094
	6	13,117	7,085	118,217	7,04	8,232	33,1
	8	12,9	7,297	121,124	6,854	8,196	33,118
	10	12,528	6,856	113,111	7,045	8,146	33,12
	15	12,417	6,65	109,521	6,172	8,11	33,1
	20	12,384	6,15	101,169	5,046	8,078	33,096
	30	12,13	5,342	87,4	2,393	7,99	33,098
Chillidque	40	11,978	5,445	88,862	2,286	8,003	33,107
	2	11,156	5,433	80,186	0,412	8,371	32,306
	4	11,064	5,427	84,968	0,612	8,369	32,492
	6	11,053	5,390	86,548	0,730	8,370	32,491
	8	11,010	5,729	86,924	0,827	8,368	32,492
	10	10,983	5,903	92,601	1,011	8,368	32,495
	15	10,969	6,003	95,198	1,646	8,368	32,500
	20	10,962	6,068	96,212	1,739	8,368	32,503
	30	10,945	6,149	97,785	1,612	8,367	32,492
	40	10,947	6,148	97,774	1,847	8,372	32,494
	50	10,937	6,124	97,403	1,905	8,371	32,498
Quinchao	60	10,890	6,096	97,005	1,472	8,372	32,501
	70	10,885	6,063	96,349	1,479	8,383	32,507
	80	10,886	6,043	95,932	1,484	8,383	32,507
	2	11,414	5,833	88,118	0,656	8,393	32,554
	4	11,335	5,567	88,186	1,412	8,399	32,559
	6	11,299	5,623	89,478	1,793	8,404	32,566
	8	11,313	5,925	92,646	2,416	8,399	32,560
	10	11,286	5,987	93,923	2,201	8,403	32,563
	15	11,231	5,975	97,121	2,596	8,416	32,581
	20	11,228	5,994	97,183	2,636	8,416	32,571

*Perfiles verticales de variables ambientales para la primera campaña se muestran en Anexo III.

Tabla 14. Variables ambientales correspondientes a las 3 centro de cultivo con tratamiento de antiparasitarios en campaña otoño-invierno.

Centro de cultivo	Profundidad (m)	Temperatura (°C)	Oxígeno (mL/L)	Oxígeno (%)	Fluorescencia (mg/m ³)	pH	Salinidad (PSU)
Puerto Haro	2	12,14	3,49	57,26	13,78	8,00	33,56
	4	11,97	3,79	61,93	13,72	8,01	33,53
	6	11,92	3,76	61,46	13,67	8,01	33,51
	8	11,87	3,78	61,72	13,66	8,01	33,49
	10	11,80	4,35	70,85	13,65	8,01	33,44
	15	11,74	4,33	70,54	13,68	8,01	33,44
	20	11,71	4,32	70,25	13,66	8,01	33,45
	30	11,66	4,29	69,74	13,39	8,01	33,45
	40	11,65	4,29	69,63	13,30	8,01	33,45
	50	11,62	4,28	69,49	13,20	8,01	33,46
	60	11,60	4,30	69,75	13,18	8,01	33,46
70	11,59	4,28	69,49	13,15	8,01	33,46	
Punta Lucu	2	11,57	4,19	67,87	13,46	8,03	33,41
	4	11,56	4,15	67,20	13,49	8,03	33,41
	6	11,55	4,15	67,31	13,53	8,03	33,41
	8	11,55	4,16	67,42	13,55	8,03	33,41
	10	11,54	4,17	67,52	13,54	8,03	33,41
	15	11,55	4,19	67,87	13,49	8,03	33,41
	20	11,55	4,20	68,12	13,47	8,02	33,41
	30	11,54	4,23	68,54	13,50	8,02	33,41
40	11,52	4,25	68,88	13,50	8,02	33,41	
50	11,52	4,27	69,08	13,50	8,02	33,41	
Paso Quenu	2	11,41	5,20	83,24	2,40	9,72	32,25
	4	11,39	5,28	84,03	2,38	9,72	32,28
	6	11,38	5,32	84,88	2,29	9,72	32,30
	8	11,37	5,43	86,31	2,25	9,72	32,32
	10	11,36	5,51	87,72	2,22	9,72	32,33
	15	11,35	5,89	93,24	2,18	9,72	32,37
	20	11,33	6,19	98,38	2,14	9,72	32,39
	25	11,32	6,49	103,23	2,13	9,72	32,42

*Perfiles verticales de variables ambientales para la segunda campaña se muestran en Anexo III.

Sedimentos

En las Tabla 15, Tabla 16 y Tabla 17 se observan los resultados de la granulometría, facies texturales y porcentaje de materia orgánica, respectivamente, para los 6 centros monitoreados en las etapas de muestreo primavera-verano y otoño-invierno. La ubicación (orientación) de cada uno de los puntos de muestreo se muestran en el punto 4.3 del presente informe.

De manera general se puede observar que los centros de cultivo presentaron una clasificación textural entre arena muy fina y arena gruesa, mostrando un bajo porcentaje de materia orgánica (< 2%).

Tabla 15. Granulometría en sedimentos colectados durante los periodos de muestreo primavera-verano (Campaña 1) y otoño-invierno (Campaña 2).

	Centro	Distancia	Orientación	Media (ϕ)	Selección (ϕ)	Asimetría	Curtosis	Clasificación textural (Wentworth, 1922)
Campaña 1	Lille 2 (C1)	0 m		3,01	1,64	1,37	4,54	Arena fina
		100 m	A	2,55	1,47	1,36	5,8	Arena fina
		500 m	A	3,14	1,56	1,09	4,9	Arena fina
		500 m	B	2,65	1,11	2,01	8,95	Arena fina
		100 m	C	2,97	1,17	1,94	7,84	Arena fina
		500 m	C	3,18	1,37	1,76	6,09	Arena fina
		500 m	D	2,33	1,04	2,02	9,66	Arena fina
	Chillidque (C2)	0 m		2,71	1,88	1,12	4,41	Arena fina
		100 m	A	2,74	2,03	0,7	3,91	Arena fina
		100 m	C	2,32	1,89	1,65	5,1	Arena fina
		500 m	C	2,39	1,67	1,85	6,12	Arena fina
		500 m	D	3,12	2,03	1,01	3,14	Arena muy fina
	Quinchao (C3)	0 m		2,71	1,24	2,4	9,29	Arena fina
		100 m	A	3,24	1,77	1,29	4,11	Arena muy fina
		500 m	A	2,97	1,37	1,92	7,11	Arena fina
		500 m	B	2,51	1,33	1,71	8,73	Arena fina
		100 m	C	3,43	1,71	1,42	3,98	Arena muy fina
		500 m	C	3,14	1,53	1,47	5,49	Arena fina
500 m		D	3,21	2,57	0,31	2,48	Arena muy fina	
Campaña 2	Punta Lucu (C1)*	0m		1,72	1,1	3,54	18,09	Arena media
		100 m	A	1,68	1,1	3,32	17,24	Arena media
		500 m	A	1,59	1,08	3,34	17,71	Arena media
	Paso Quenu (C2)	0 m		1,48	1,74	1,7	6,94	Arena media
		100 m	A	1,71	1,82	1,5	6,7	Arena media
		500 m	A	1,56	1,3	1,79	10,93	Arena media
		500 m	B	0,92	1,09	3,12	19,75	Arena gruesa
		100 m	C	1,34	1,34	2,01	10,29	Arena media
		500 m	D	2,09	1,59	1,53	7,15	Arena media
	Puerto Haro (C3)	0 m		2,34	1,83	1,73	6,23	Arena fina
		100 m	A	2,19	1,53	1,89	7,92	Arena media
		500 m	A	2,37	1,89	1,53	5,52	Arena fina
		500 m	B	2,1	1,5	2,21	9,07	Arena media
		100 m	C	2,13	1,51	2,36	9,53	Arena media
		500 m	C	1,87	1,21	2,56	13,36	Arena media
		500 m	D	1,58	1,21	2,04	11,69	Arena media

*Centro Punta Lucu se caracterizó por presentar un fondo rocoso en las orientaciones B, C y D.

Tabla 16. Facies texturales en sedimentos colectados durante los periodos de muestreo primavera-verano (Campaña 1) y otoño-invierno (Campaña 2).

	Centro	Distancia	Orientación	% Fango	% Arena	% Grava
Campaña 1	Lille 2 (C1)	0 m		18	82	0
		100 m	A	11	89	0
		500 m	A	17	83	0
		500 m	B	7	93	0
		100 m	C	10	90	0
		500 m	C	15	85	0
		500 m	D	5	95	0
	Chillidque (C2)	0 m		16	84	1
		100 m	A	17	81	3
		100 m	C	14	86	0
		500 m	C	12	88	0
		500 m	D	24	76	0
	Quinchao (C3)	0 m		8	92	0
		100 m	A	20	80	0
		500 m	A	11	89	0
		500 m	B	7	92	1
		100 m	C	21	79	0
		500 m	C	15	85	0
500 m		D	29	66	5	
Campaña 2	Punta Lucu (C1)	0 m		4	96	0
		100 m	A	4	96	0
		500 m	A	3	97	0
	Paso Quenu (C2)	0 m		7	90	3
		100 m	A	8	89	3
		500 m	A	3	96	1
		500 m	B	2	98	0
		100 m	C	3	96	1
		500 m	D	8	91	1
	Puerto Haro (C3)	0 m		11	89	0
		100 m	A	7	93	0
		500 m	A	13	87	0
		500 m	B	7	93	0
		100 m	C	7	93	0
		500 m	C	4	96	0
500 m		D	3	97	0	

Tabla 17. Porcentaje de materia orgánica en sedimentos colectados durante los periodos de muestreo primavera-verano (Campaña 1) y otoño-invierno (Campaña 2).

	Centro	Distancia	Orientación	Materia Orgánica (%)
Campaña 1	Lille 2 (C1)	0 m		1,42
		100 m	A	1,15
		500 m	A	1,11
		500 m	B	0,95
		100 m	C	1,3
		500 m	C	1,31
		500 m	D	1,13
	Chillidque (C2)	0 m		1,06
		100 m	A	1,04
		100 m	C	1,18
		500 m	C	1,16
		500 m	D	1,44
	Quinchao (C3)	0 m		1,5
		100 m	A	1,47
		500 m	A	1,3
		500 m	B	1,72
		100 m	C	1,01
		500 m	C	1,42
500 m		D	2,03	
Campaña 2	Punta Lucu (C1)	0 m		1,61
		100 m	A	1,73
		500 m	A	1,78
	Paso Quenu (C2)	0 m		1,02
		100 m	A	1,4
		500 m	A	0,85
		500 m	B	0,87
		100 m	C	1,68
		500 m	D	1,07
	Puerto Haro (C3)	0 m		1,83
		100 m	A	1,86
		500 m	A	2,05
		500 m	B	1,49
		100 m	C	1,04
		500 m	C	1,41
		500 m	D	1,28

4.7. Derivadores de corriente lagrangiana

4.7.1. Campaña primavera-verano

Durante los meses de noviembre y diciembre del 2014, se realizaron lances de derivadores superficiales y de fondo en distintos sectores de la Isla de Chiloé. Estos lances se realizaron desde embarcaciones menores. Los derivadores se arrojaron simultáneamente en cada sector de estudio, cercano a los centros de cultivo, dada la existencia de líneas (cordeles) existentes en los alrededores de cada centro se optó por instalar los derivadores en zonas cercanas, esto para no enredar los derivadores y que no fuesen afectados por las embarcaciones de los centros.

Los estudios de corrientes lagrangianas se realizaron durante dos fechas, la primera de ellas se realizó siguiendo los derivadores, entre los días 8 y 12 de noviembre y la segunda el 16 de diciembre de 2014 (Tabla 18 y Tabla 19).

Tabla 18. Resumen de las fechas y horas de instalación de los derivadores para la primera fecha de estudio.

SECTOR	DERIVADOR	FECHA	HORA LANCE	CONDICION
QUINCHAO	SUPERFICIAL	08-11-2014	10:24	LLENANTE
	FONDO	08-11-2014	10:24	LLENANTE
	SUPERFICIAL	08-11-2014	11:27	LLENANTE
	FONDO	08-11-2014	11:27	LLENANTE
	SUPERFICIAL	10-11-2014	11:54	LLENANTE
	FONDO	10-11-2014	11:54	LLENANTE
	SUPERFICIAL	10-11-2014	15:42	VACIANTE
	FONDO	10-11-2014	15:42	VACIANTE
CHILLIDQUE	SUPERFICIAL	09-11-2014	10:38	LLENANTE
	FONDO	09-11-2014	10:38	LLENANTE
	SUPERFICIAL	09-11-2014	11:19	LLENANTE
	FONDO	09-11-2014	11:19	LLENANTE
	SUPERFICIAL	12-11-2014	10:30	VACIANTE
	FONDO	12-11-2014	10:30	VACIANTE
	SUPERFICIAL	12-11-2014	11:06	LLENANTE
	FONDO	12-11-2014	11:06	LLENANTE
	SUPERFICIAL	12-11-2014	15:44	LLENANTE
	FONDO	12-11-2014	15:44	LLENANTE

Tabla 19. Resumen de las fechas y horas de instalación de los derivadores para la segunda fecha de estudio en Centro Lille 2, Quellón.

SECTOR	DERIVADOR	FECHA	HORA LANCE	CONDICION
QUELLON	SUPERFICIAL	16-12-2014	10:24	LLENANTE
	FONDO	16-12-2014	10:24	LLENANTE

Centro Quinchao

Los derivadores superficiales en marea llenante, para el 8 de noviembre de 2014, siguieron una trayectoria con dirección de 97° (SE), siguiendo una tendencia de generar un sentido horario dentro de la Bahía (Figura 28). Los derivadores superficiales alcanzaron una distancia media de 0.28 km, con una velocidad media de 8.4 cm/s (Tabla 20). El segundo lance mostró la misma tendencia hacia el SE con dirección promedio de 81° , una distancia recorrida de 0.225 km y velocidad de 5.1 cm/s.

Respecto de los derivadores de fondo (Tabla 20), en condición llenante, cabe señalar que estos se desplazaron en contra de los derivadores superficiales, con dirección promedio de 21° (NE) alcanzado una distancia media de 0.082 km, con una velocidad promedio de 3.2 cm/s para los distintos derivadores de fondo. En el segundo lance se observó una dirección hacia el NO con 308° , y un desplazamiento de 0.48 km cuya velocidad fue de 10.55 cm/s.

Respecto de los derivadores superficiales en llenante para el 10 de noviembre de 2014 (Figura 29), cabe señalar que estos describieron una trayectoria distinta a la registrada para la misma marea del día 8 de noviembre, siguiendo una dirección promedio de 350° (NO), alcanzado una distancia media de 0.072 km con una velocidad promedio de 8.35 cm/s (Tabla 20).

Los derivadores de fondo para el 10 de noviembre (Tabla 20), se desplazaron hacia los 334° (NO) en promedio, cuya velocidad vario entre los 6.75 cm/s, alcanzado una distancia media de 0.059 km.

El segundo lance correspondió a condiciones de marea vaciante, los derivadores superficiales (Figura 30) se desplazaron hacia el NO con dirección 330° . El desplazamiento fue de 0.10 km con una velocidad promedio de 11.8 cm/s (Tabla 20). Para los derivadores de fondo, estos también se desplazaron en la dirección anterior, desplazándose solo 0.07 km, con una velocidad de 8.45 cm/s.

En relación a los vientos medidos durante la experiencia en Quinchao para 08/11/2014 estos promediaron 2.7 m/s con dirección NO. En el caso de las

mediciones durante el 10/11/2014 el viento se presentó con un valor de 3.6 m/s y dirección SO.

Tabla 20. Resultados del T: tiempo transcurrido entre inicio y final, Lr: Distancia residual, Mr: magnitud residual, Dr: dirección residual, CC: constancia de la corriente, para cada Derivador superficial y de fondo instalados en la zona de Quinchao, entre los días 8 y 10 de noviembre de 2014.

DERIVADOR SUPERFICIAL		Primer Lance						Segundo Lance					
Derivador	Fecha	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC
		inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]	inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]
S01	08-11-2014	10:24	55,4	0,29	8,6	97,5	98	11:27	7,50	0,22	4,8	83,2	98
S02	08-11-2014	10:24	55,5	0,27	8,2	95,5	95	11:27	7,00	0,23	5,4	79	93
DERIVADOR DE FONDO		Primer Lance						Segundo Lance					
Derivador	Fecha	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC
		Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]	Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]
F01	08-11-2014	10:24	43,4	0,08	3,2	13,4	86	11:27	7,5	0,52	11,4	288	59
F02	08-11-2014	10:24	40,5	0,08	3,3	21,5	58	11:27	7,5	0,44	9,7	329	71
F03	08-11-2014	10:24	44	0,08	3,2	26,6	88	11:27	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN
DERIVADOR SUPERFICIAL		Primer Lance						Segundo Lance					
Derivador	Fecha	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC
		Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]	Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]
S01	10-11-2014	11:54	14,5	0,07	8,3	341,2	79	15:42	13,5	0,10	11,9	331	79
S02	10-11-2014	11:54	14,5	0,07	8,4	0,9	69	15:42	13,5	0,10	11,7	330	80
DERIVADOR DE FONDO		Primer Lance						Segundo Lance					
Derivador	Fecha	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC
		Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]	Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]
F01	10-11-2014	11:54	14,5	0,06	6,6	340,8	84	15:42	13,5	0,06	7,8	336	99
F02	10-11-2014	11:54	14,5	0,06	6,9	0,5	93	15:42	13,5	0,07	9,1	341	99

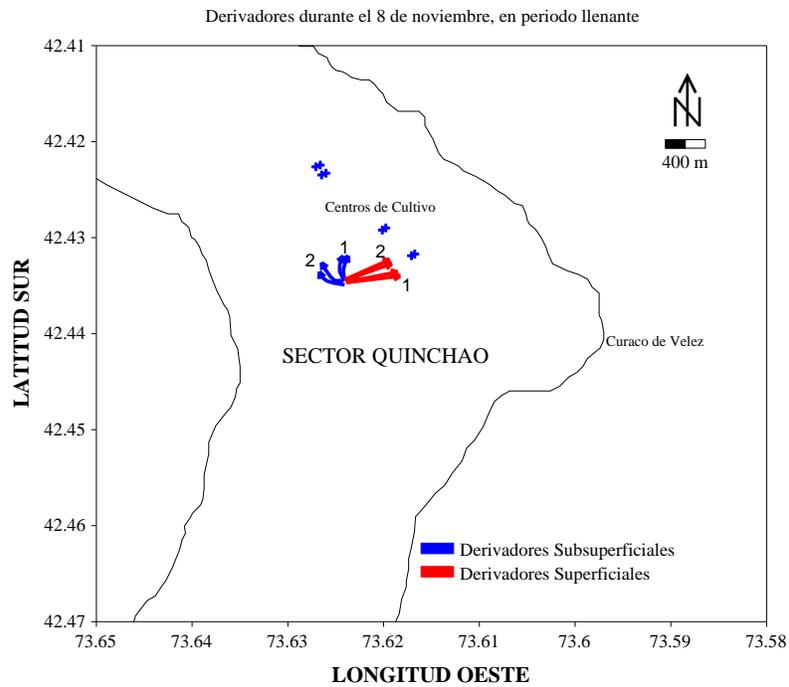


Figura 28. Derivadores durante el periodo llenante de este estudio (número 1, 2 indica número de lances realizados).

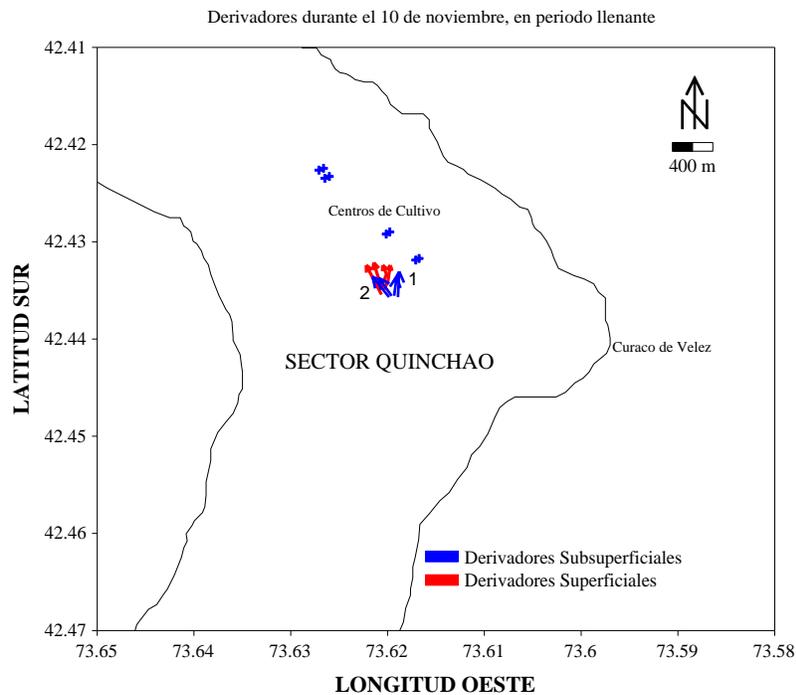


Figura 29. Derivadores durante el periodo llenante de este estudio (número 1, 2 indica número de lances realizados).

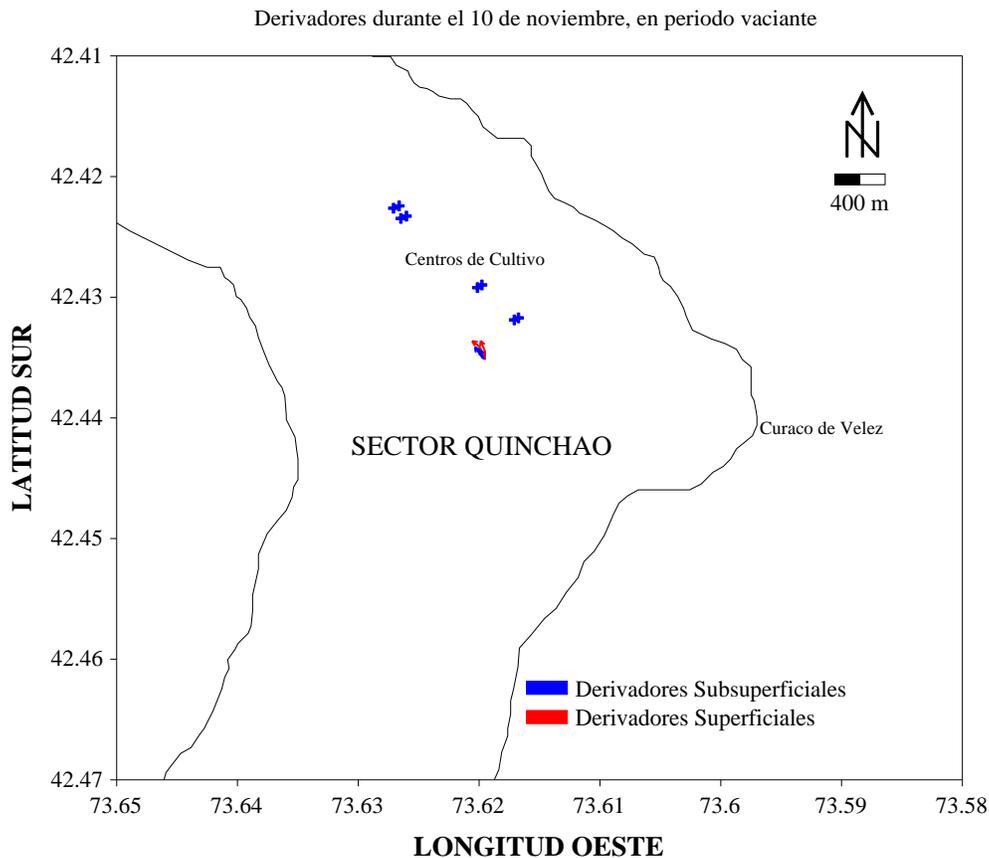


Figura 30. Derivadores durante el periodo vaciante de este estudio.

Centro Chillidque

Los derivadores superficiales en marea llanante, para el 9 de noviembre de 2014, siguieron una trayectoria con dirección de 304° (NO), siguiendo una tendencia de generar un sentido horario dentro de la Bahía (Figura 31). Los derivadores superficiales alcanzaron una distancia media de 0.16 km, con una velocidad media de 7.2 cm/s (Tabla 21). En el segundo lance se mantuvo una dirección similar con 288° (NO), pero con mayor desplazamiento (0.38 km) y una velocidad media de 8 cm/s.

Respecto de los derivadores de fondo (Tabla 21), también para el 9 de noviembre, en condición llanante, en el primer lance cabe señalar que estos se desplazaron en la misma dirección de los derivadores superficiales, con dirección promedio de 305° (NO) alcanzado una distancia media de 0.15 km, con una velocidad promedio de 6.9 cm/s para los distintos derivadores de fondo. El segundo lance se mantuvo la

dirección NO con 292° de dirección, un desplazamiento de 0.43 m y velocidad de 8 cm/s.

Respecto de los derivadores superficiales en llenante para el 12 de noviembre de 2014 (Tabla 21), cabe señalar que estos describieron una trayectoria similar a la registrada para la misma marea del día 9 de noviembre, siguiendo una dirección promedio de 358° (NO), alcanzado una distancia media de 0.055 km con una velocidad promedio de 2.95 cm/s (Figura 32 y Tabla 21). Para el segundo lance se mantuvo una dirección similar al NO, con 308.8°, y un desplazamiento de 0.11 km. La velocidad promedio fue de 3.3 cm/s.

Los derivadores de fondo para el 12 de noviembre en llenante, se desplazaron hacia los 355° (NO) en promedio, cuya velocidad vario entre los 3.6 cm/s, alcanzado una distancia media de 0.07 km. En el segundo lance se mantuvo una dirección NO con 273°, cuya distancia recorrida fue de 0.08 km a una velocidad de 2.4 cm/s (Tabla 21).

En el caso de la condición vaciante para el 12 de noviembre, mantuvieron una dirección NO con 281°. El desplazamiento de los derivadores superficiales fue de 0,46 km y una velocidad de 19.2 cm/s. Los derivadores de fondo mostraron el mismo comportamiento anterior con una dirección de 282° NO. La distancia recorrida por los derivadores de fondo fue de 0.44 km y una velocidad de 18.7 cm/s (Tabla 21 y Figura 33).

En relación a los vientos medidos durante la experiencia en Chillidque para 09/11/2014 estos promediaron 1.7 m/s con dirección NO. En el caso de las mediciones durante el 12/11/2014 el viento se presentó con un valor de 1.7 m/s y dirección SO.

Tabla 21. Resultados del T: tiempo transcurrido entre inicio y final, Lr: Distancia residual, Mr: magnitud residual, Dr: dirección residual, constancia de la corriente, para cada Derivador superficial y de fondo instalados en la zona de Chillidque, entre los días 9 y 12 de noviembre de 2014.

CHILLIDQUE		Primer Lance						Segundo Lance											
Derivador	Fecha	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC						
		Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]	Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]						
S01	09-11-2014	10:38	37.5	0.162	7.2	304.3	40.9	11:19	25.5	0.385	8.1	288.1	98.4						
S02	09-11-2014	10:38	37.5	0.163	7.2	304.7	41.0	11:19	25.5	0.371	8.2	288.0	99.0						
CHILLIDQUE		Primer Lance						Segundo Lance											
Derivador	Fecha	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC						
		Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]	Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]						
F01	09-11-2014	10:38	34.0	0.135	6.6	303.9	83.4	11:19	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN						
F02	09-11-2014	10:38	37.5	0.161	7.1	306.3	34.7	11:19	25.5	0.428	8.0	291.8	99.0						
CHILLIDQUE		Primer Lance						Segundo Lance						Tercer Lance					
Derivador	Fecha	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC
		Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]	Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]	Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]
S01	12-11-2014	10:30	31.5	0.056	3.0	358.2	31.7	11:06	55.5	0.109	3.3	311.2	85.1	15:44	39.1	0.440	18.8	281.2	96.2
S02	12-11-2014	10:30	31.6	0.054	2.9	358.5	30.5	11:06	55.5	0.109	3.3	306.3	91.8	15:44	39.5	0.465	19.6	281.3	95.9
CHILLIDQUE		Primer Lance						Segundo Lance						Tercer Lance					
Derivador	Fecha	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC
		Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]	Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]	Inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]
F01	12-11-2014	10:30	31.5	0.057	3.0	11.1	46.7	11:06	52.5	0.081	2.6	273.4	69.0	15:44	39.0	0.428	18.3	282.5	96.1
F02	12-11-2014	10:30	31.5	0.073	3.9	342.8	68.6	11:06	51.5	0.074	2.4	272.1	79.5	15:44	39.5	0.447	18.9	281.7	93.9
F03	12-11-2014	10:30	31.5	0.072	3.8	344.9	77.6	11:06	53.5	0.075	2.3	271.5	77.4	15:44	39.5	0.448	18.9	281.3	95.6

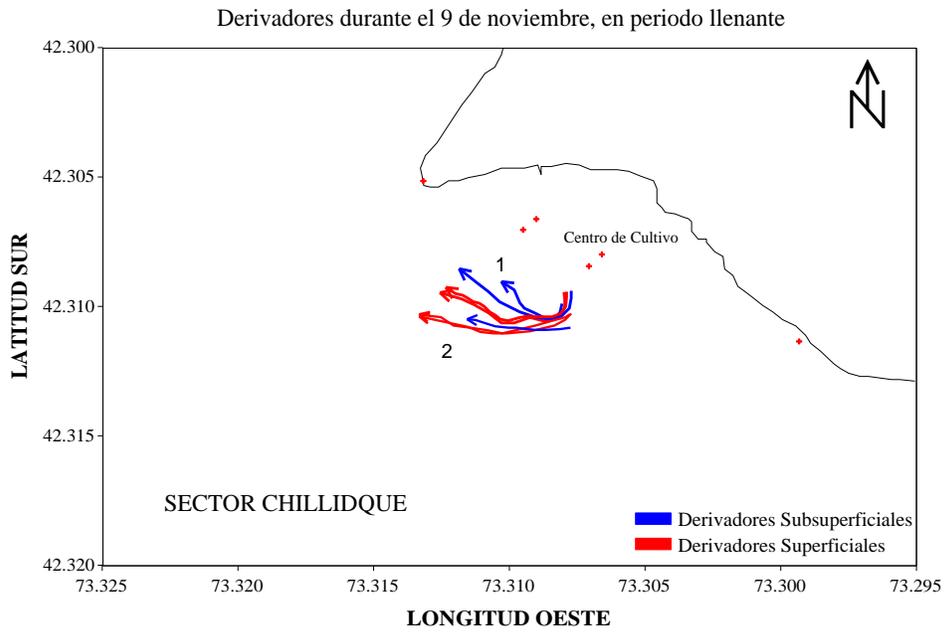


Figura 31. Derivadores durante el periodo llenante de este estudio (número 1, 2 indica número de lances realizados).

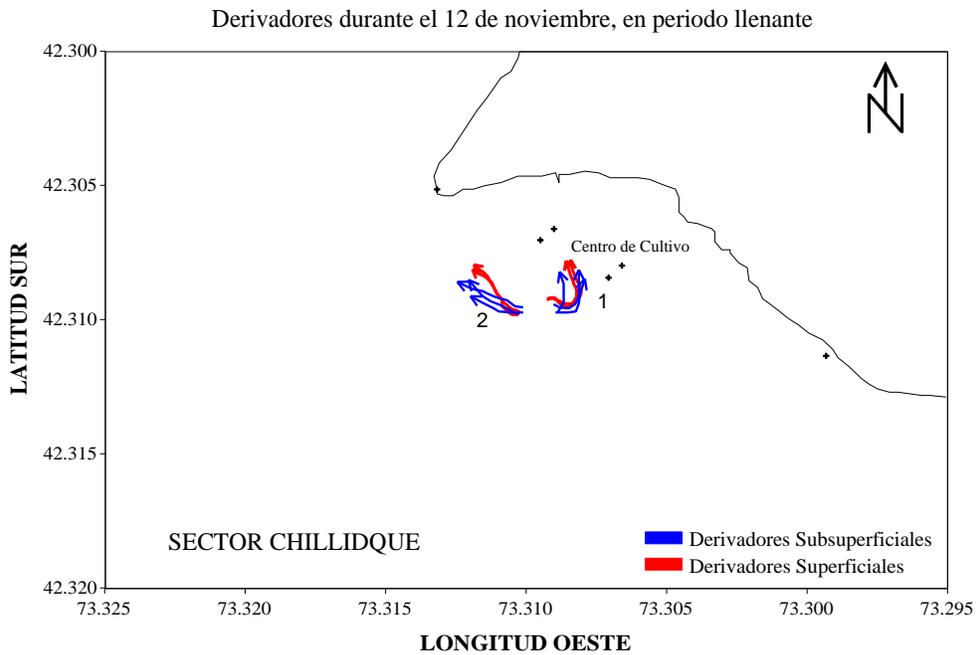


Figura 32. Derivadores durante el periodo llenante de este estudio (número 1, 2 indica número de lances realizados).

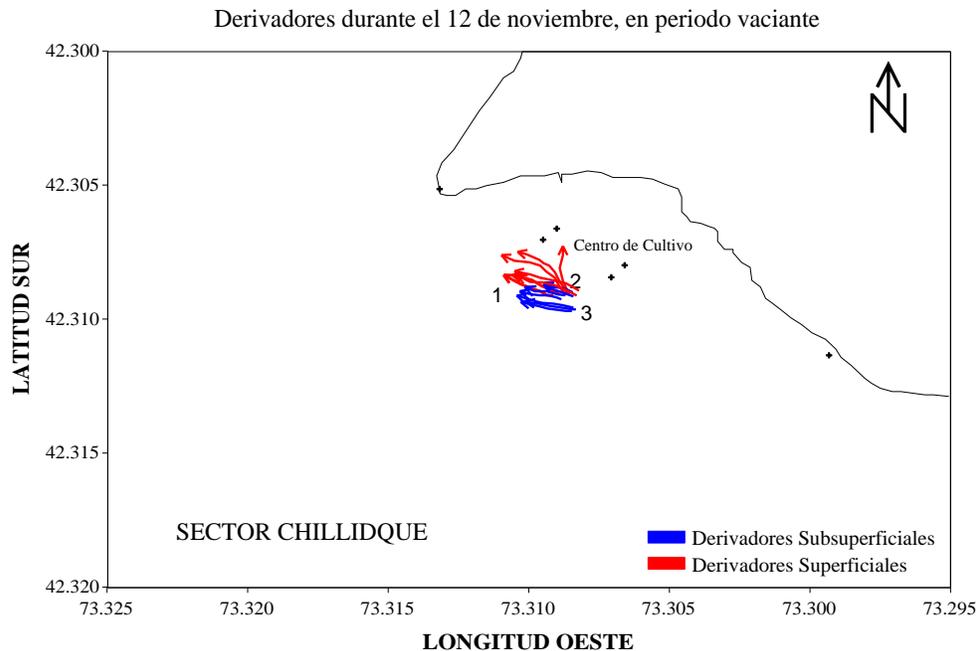


Figura 33. Derivadores durante el periodo llenante de este estudio (número 1, 2 y 3 indica número de lances realizados).

Centro Lille 2

Los derivadores superficiales en marea llenante, para el 16 de diciembre de 2014, siguieron una trayectoria con dirección de 42° (NE), siguiendo una tendencia de generar un sentido antihorario dentro de la Bahía (Figura 34). Los derivadores superficiales alcanzaron una distancia media de 0,30 km, con una velocidad media de 18,7 cm/s (Tabla 22).

Respecto de los derivadores de fondo (Tabla 22), en condición llenante, cabe señalar que estos se desplazaron en similar dirección que los derivadores superficiales, con dirección promedio de 55° (NE) alcanzado una distancia media de 0,05 km, con una velocidad promedio de 3,3 cm/s para los distintos derivadores de fondo.

En relación a los vientos medidos durante la experiencia en Quellón para 16/12/2014 estos promediaron 5,1 m/s con dirección S.

Tabla 22. Resultados del T: tiempo transcurrido entre inicio y final, Lr: Distancia residual, Mr: magnitud residual, Dr: dirección residual, constancia de la corriente, para cada Derivador superficial y de fondo instalados en la zona de Quellón, para el día 16 de diciembre de 2014.

Derivadores superficiales							
QUELLON				Primer Lance			
Derivador	Fecha	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC
		inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]
S01	16-12-2014	17:08	27.5	0.303	18.4	42.7	99.8
S02	16-12-2014	17:08	27.5	0.314	19.0	40.8	98.4
Derivadores de fondo							
QUELLON				Primer Lance			
Derivador	Fecha	Hora	T	Lr	Mr	Dr	CC
		inicio	[Min]	[km]	[cm/s]	[o]	[%]
F01	16-12-2014	17:10	25.5	0.05	3.2	53.0	54.5
F02	16-12-2014	17:10	25.5	0.05	3.3	57.0	84.6

Derivadores durante el 16 de diciembre en periodo llenante

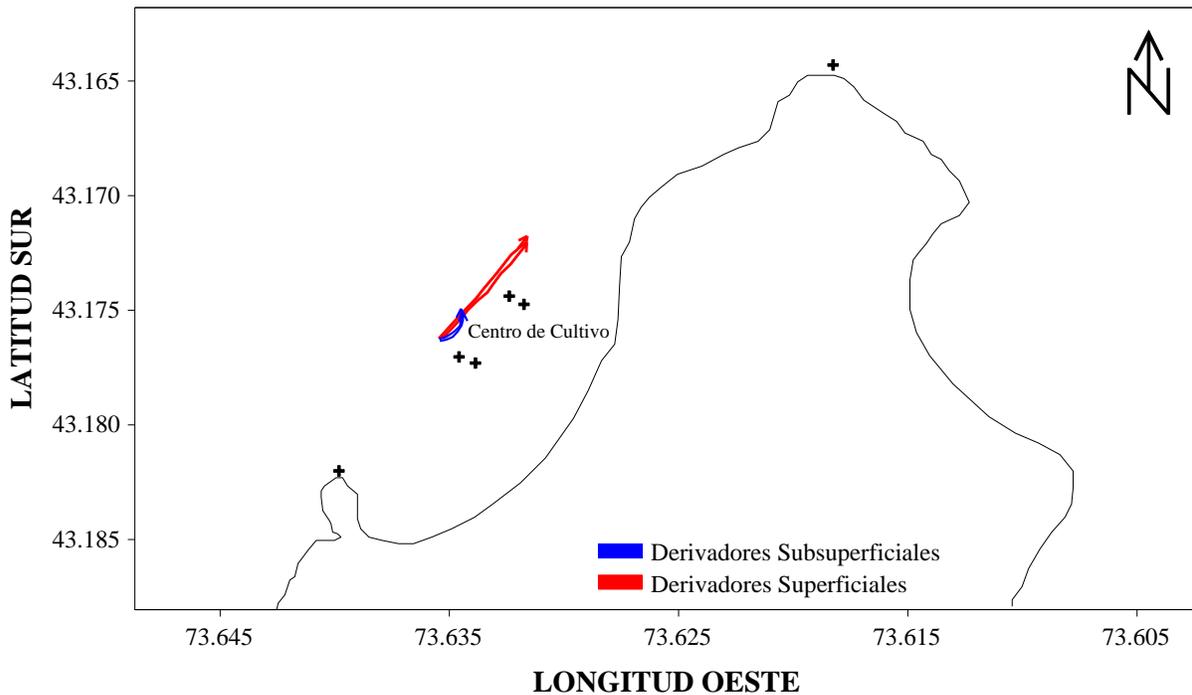


Figura 34. Derivadores durante el periodo llenante de este estudio.

4.7.2. Campaña otoño-invierno

Durante los meses de Abril y julio del 2015, se realizaron lances de derivadores superficiales y de media agua en distintos sectores de la Isla de Chiloé. Estos lances se realizaron desde embarcaciones menores. Los derivadores se arrojaron simultáneamente en cada sector de estudio, cercano a los centros de cultivo, dada la existencia de líneas (cordeles) en los alrededores de cada centro se optó por instalar los derivadores en zonas cercanas, esto para no enredar los derivadores y que no fuesen afectados por las embarcaciones de los centros. Los estudios de corrientes lagrangianas se realizaron durante tres fechas, la primera de ellas se realizó siguiendo los derivadores, el día 10 (Puerto Haro) y 23 de abril (Punta Lucu) y luego el 11 de julio de 2015 (Paso Quenu) (Tabla 23 y Tabla 24). En Tabla 25 se muestran las alturas de marea para los días de estudio.

Tabla 23. Resumen de las fechas y horas de instalación de los derivadores para las primeras fechas de estudio, para este periodo.

SECTOR	DERIVADOR	FECHA	HORA LANCE	CONDICION
PUERTO HARO	SUPERFICIAL	10-04-2015	10:14	VACIANTE
	MEDIA AGUA	10-04-2015	10: 17	VACIANTE
	SUPERFICIAL	10-04-2015	17:03	VACIANTE
	MEDIA AGUA	10-04-2015	17:07	VACIANTE
PUNTA LUCU	SUPERFICIAL	23-04-2015	8:23	VACIANTE
	MEDIA AGUA	23-04-2015	13:25	LLENANTE
	SUPERFICIAL	23-04-2015	13:25	LLENANTE

Tabla 24. Resumen de las fechas y horas de instalación de los derivadores para la segunda fecha de estudio.

SECTOR	DERIVADOR	FECHA	HORA LANCE	CONDICION
PASO QUENU	SUPERFICIAL	11-07-2015	15:12	VACIANTE
	MEDIA AGUA	11-07-2015	15:25	VACIANTE
	SUPERFICIAL	11-07-2015	16:00	LLENANTE
	MEDIA AGUA	11-07-2015	16:13	LLENANTE

Tabla 25. Alturas de marea para los días de estudio, obtenidas desde Tabla de Mareas del SHOA, para Puerto Patrón Puerto Montt.

SECTOR	FECHA	HORA	ALTURA
PUERTO HARO	10-04-2015	4:49	4,97
		10:48	2,35
		17:01	5,32
		23:37	2,24
PUNTA LUCU	23-04-2015	4:36	5,48
		10:38	1,95
		16:48	5,64
		23:16	1,84
PASO QUENU	11-07-2015	3:24	1,93
		9:47	5,70
		16:18	1,91
		22:24	5,29

Puerto Haro

Los lances realizados correspondieron a condiciones de marea vaciante, los derivadores superficiales (Figura 35) se desplazaron hacia el SO con direcciones entre los 232° y 278° . El desplazamiento máximo fue de 103,5 m con una velocidad máxima de 4,9 cm/s (Tabla 26). Para los derivadores de media agua (Figura 4), estos también se desplazaron en la dirección anterior, SO (entre los $234,1^{\circ}$ a $228,5^{\circ}$), desplazándose solo 56,1 m, como distancia máxima, con una velocidad de 2,5 cm/s (Tabla 26).

En relación a los vientos medidos durante la experiencia en Puerto Haro para el 10/04/2015 estos promediaron 1,02 m/s con dirección NE.

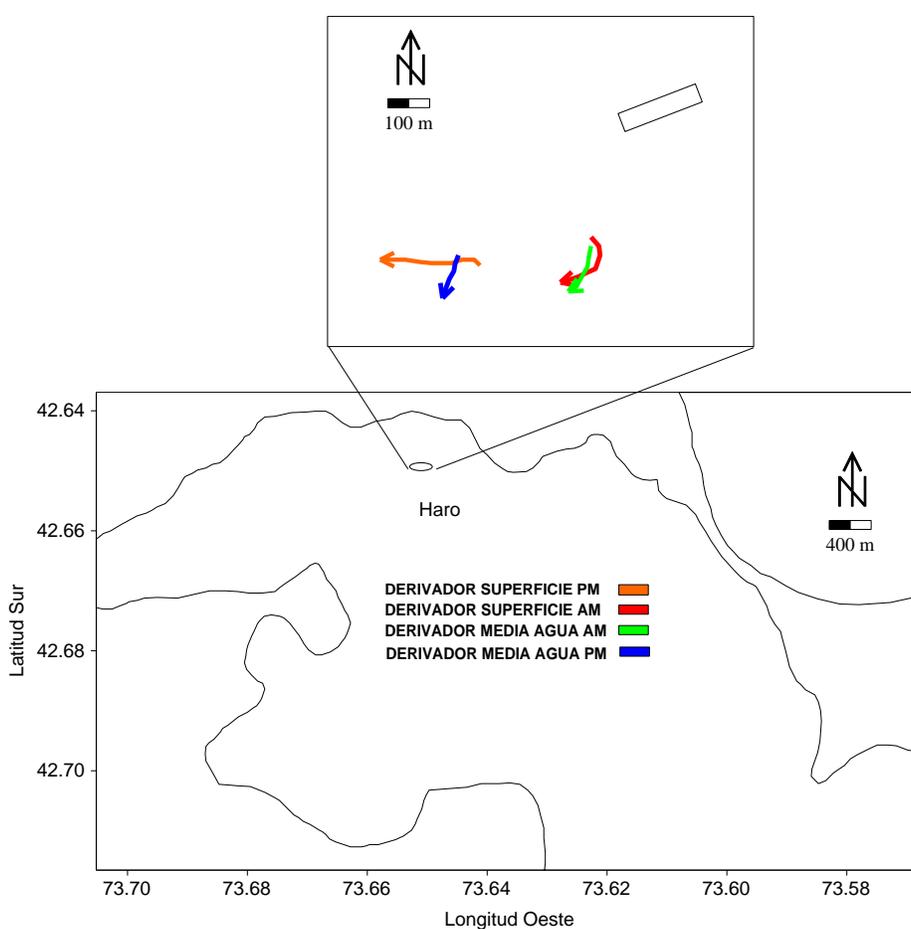


Figura 35. Derivadores durante el día 10 de abril de 2015, para el sector Puerto Haro.

Punta Lucu

El primer lance realizado correspondió a condición de marea vaciante, el derivador superficial (Figura 36) se desplazó hacia el SO con dirección $195,1^\circ$. El desplazamiento máximo fue de 405,2 m con una velocidad máxima de 17,8 cm/s (Tabla 26).

Para el derivador superficial en condición llenante (Figura 36), evidenció un cambio de dirección con respecto al lance en condición vaciante, dirigiéndose al Norte a $352,8^\circ$ desplazándose 411,6 m, como distancia máxima, con una velocidad de 19,9 cm/s (Tabla 26). En el caso del derivador de media agua en llenante este recorrió una distancia de 454,7 m a una velocidad de 21,0 cm/s en dirección Norte ($356,1^\circ$).

En relación a los vientos medidos durante la experiencia en Punta Lucu para el 23/04/2015 estos promediaron 1,3 m/s con dirección NE.

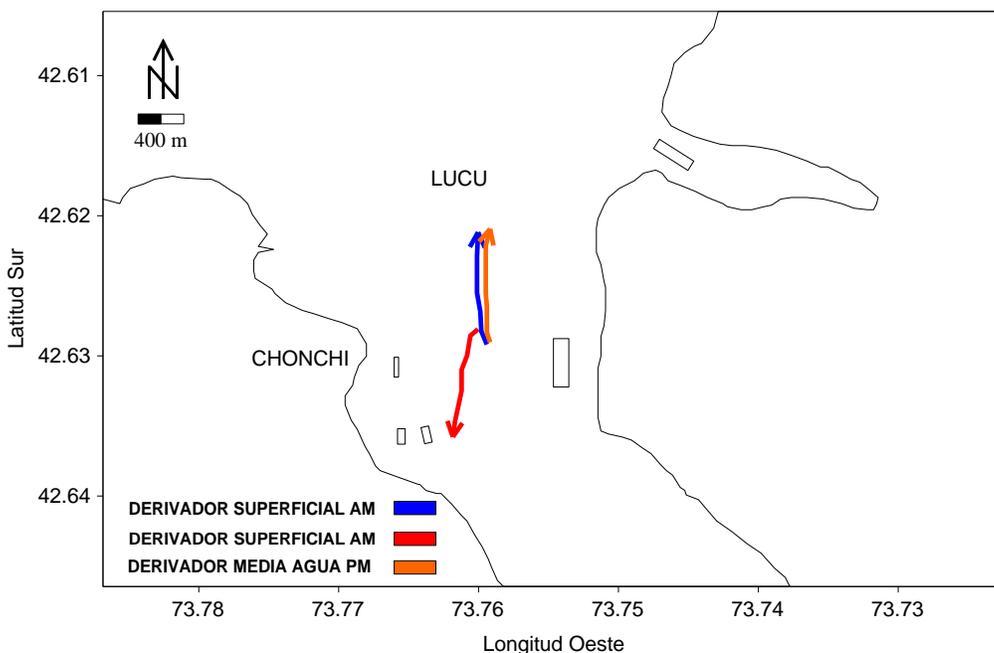


Figura 36. Derivadores durante el día 23 de abril de 2015, para el sector Punta Lucu.

Paso Quenu

El primer lance realizado correspondió a condición de marea vaciante, el derivador superficial (Figura 37) se desplazó hacia el ESE con dirección $118,2^\circ$. El desplazamiento máximo fue de 158,7 m con una velocidad máxima de 5,6 cm/s (Tabla 26). El derivador de media agua, mostro una similar dirección de desplazamiento, hacia el Este o $90,4^\circ$. Su distancia recorrida fue de 118,5 m, a una velocidad de 11,9 cm/s (Tabla 26).

Para el derivador superficial en condición llenante (Figura 37), mostro una dirección similar con respecto al lance en condición vaciante, dirigiéndose a ESE a $111,2^\circ$ desplazándose 99,4 m, como distancia máxima, con una velocidad de 12,7 cm/s (Tabla 26). En el caso del derivador de media agua en llenante este recorrió una distancia de 168,9 m a una velocidad de 5,9 cm/s en dirección Este ($81,7^\circ$).

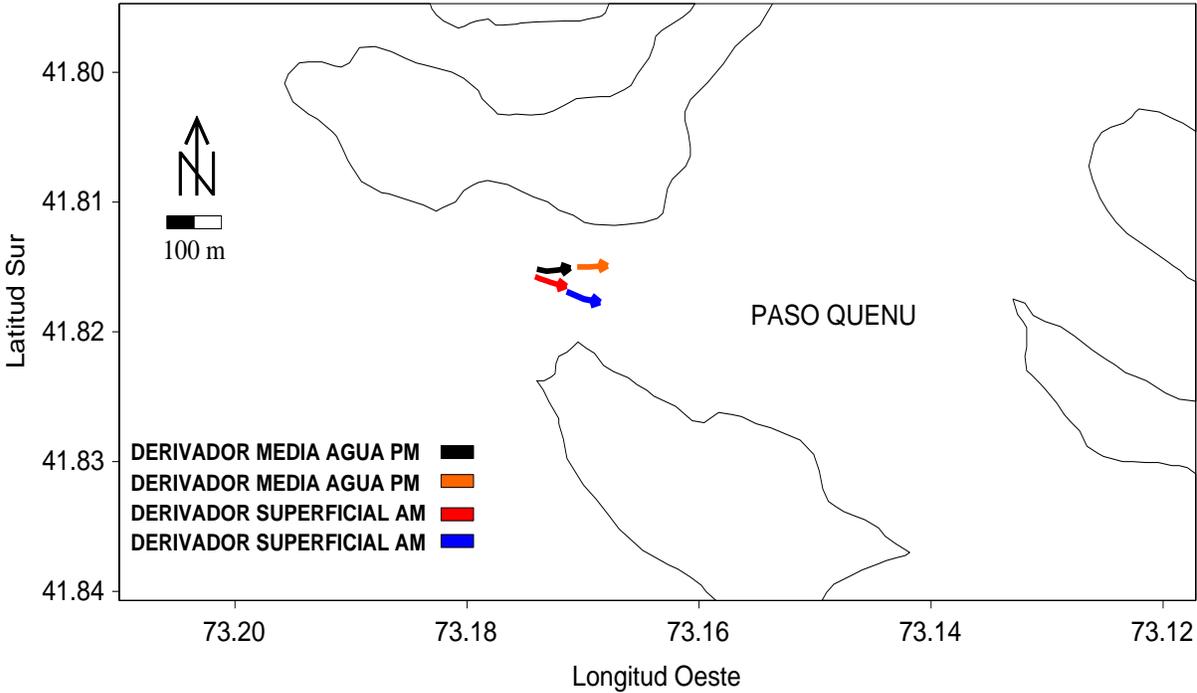


Figura 37. Derivadores durante el día 11 de julio de 2015, para el sector Paso Quenu.

Tabla 26. Resultados del Tiempo (T), Distancia (D), Rapidez (R) y Dirección (D) recorrida por los Derivadores Superficiales y de Media Agua para los tres sectores de estudio.

SUPERFICIE	CONDICION	Tiempo [min]	Distancia [m]	Rapidez [cm/s]	Rapidez [km/h]	Dirección [°]
HARO 1	VACIANTE	44.0	57.8	2.2	0.08	232.3
HARO 2	VACIANTE	35.0	103.5	4.9	0.18	278.6
LUCU 1	VACIANTE	38.0	405.2	17.8	0.64	195.1
LUCU 2	LLENANTE	34.5	411.6	19.9	0.72	352.8
QUENU 1	VACIANTE	47.0	158.7	5.6	0.20	118.2
QUENU 2	LLENANTE	13.0	99.4	12.7	0.46	111.2
MEDIA AGUA	CONDICION	Tiempo [min]	Distancia [m]	Rapidez [cm/s]	Rapidez [km/h]	Dirección [°]
HARO 1	VACIANTE	37.5	56.1	2.5	0.09	234.1
HARO 2	VACIANTE	36.0	38.8	1.8	0.06	228.5
LUCU 1	LLENANTE	36.1	454.7	21.0	0.76	356.1
QUENU 1	VACIANTE	16.5	118.5	11.9	0.43	90.4
QUENU 2	LLENANTE	47.5	168.9	5.9	0.21	81.7

4.8. Biota marina

4.8.1. Fitoplancton

4.8.1.1. Campaña primavera-verano

Índice de Diversidad

La diversidad fitoplanctónica, que considera la riqueza y la uniformidad de la distribución del número de individuos de cada especie, presentó un promedio de $4,06 \pm 0,17$ Bits en el pre tratamiento (Tabla 27). La mayor diversidad se registró en el centro Lille 2 (0 m) con 4,36 Bits, mientras que el mínimo de 3,85 Bits se registró en los centros Lille 2 (500 m) y Quinchao (0 m) (Figura 38).

Postratamiento, la diversidad Fitoplanctónica presentó un promedio de $4,00 \pm 0,18$ Bits (Tabla 27). La mayor diversidad se registró en el centro Quinchao (500 m) con 4,14 Bits, mientras que el mínimo de 3,584 Bits se registró en el centro Quinchao (0 m) (Figura 38).

La biodiversidad, en el pre-tratamiento, presentó un promedio de $14,16 \pm 1,69$. La máxima biodiversidad se registró en el centro Lille 2 (0 m) con un $D= 17,85$. Por otra parte, el mínimo se registró en los centros Lille2 (500 m) y Quinchao (0 m) con un $D =11,95$ (Tabla 27).

Postratamiento, la biodiversidad presentó un promedio de $13,55 \pm 1,69$. La máxima biodiversidad se registró en el centro Quinchao (100 m y 500 m) con un $D= 14,96$. Por otra parte, el mínimo también se registró en los centro Quinchao (0 m) con un $D =9,76$ (Tabla 27).

Tabla 27. Parámetros comunitarios por estación: índice biodiversidad de Margalef e índice de diversidad de Shannon (H') para pre tratamiento y pos tratamiento.

Pretratamiento	Lille2			Chillidque			Quinchao		
	0m	100m	500m	0m	100m	500m	0m	100m	500m
Biodiversidad	17,85	12,53	11,95	14,22	15,51	14,78	11,95	14,6	14,04
H'	4,369	3,912	3,85	4,078	4,19	4,127	3,85	4,111	4,06
Biodiversidad promedio	$14,16 \pm 1,89$								
H' promedio	$4,06 \pm 0,17$								

Postratamiento	Lille2			Chillidque		Quinchao		
	0m	100m	500m	100m	500m	0m	100m	500m
Biodiversidad	13,85	13,85	14,41	12,72	13,85	9,76	14,96	14,96
H'	4,04	4,04	4,09	3,93	4,04	3,58	4,14	4,14
Biodiversidad promedio	13,55 ± 1,69							
H' promedio	4,00 ± 0,18							

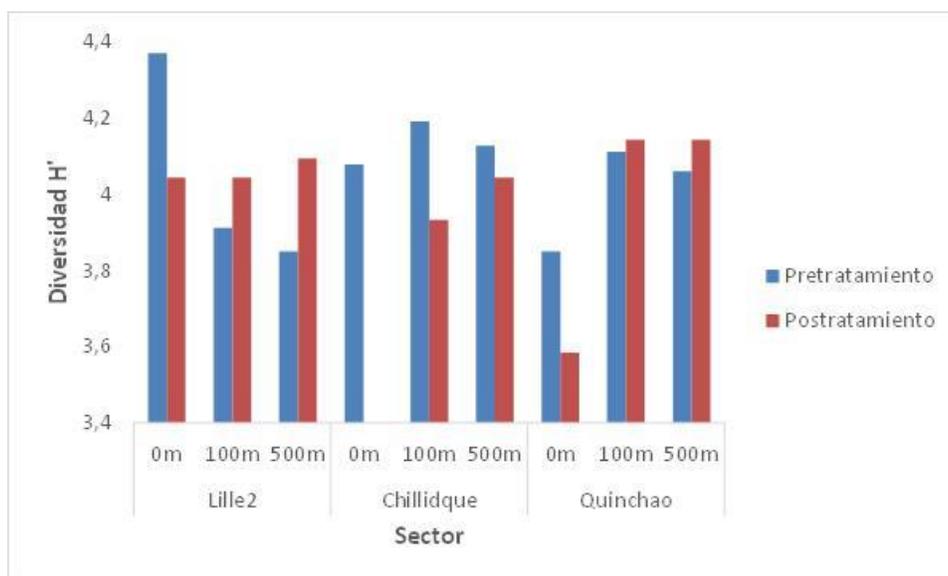


Figura 38. Composición espacial de la diversidad de Shannon (H') del fitoplancton en pre y postratamiento.

Análisis multivariado

Mediante un análisis general de abundancia de especies fitoplanctónicas en los 3 centros de cultivo para la primera campaña de muestreo se observó diferencias significativas ($R_{Global} = 0,667$; $p = 0,001$) entre las especies identificadas en las distintas áreas de estudio con antiparasitarios (Figura 39).

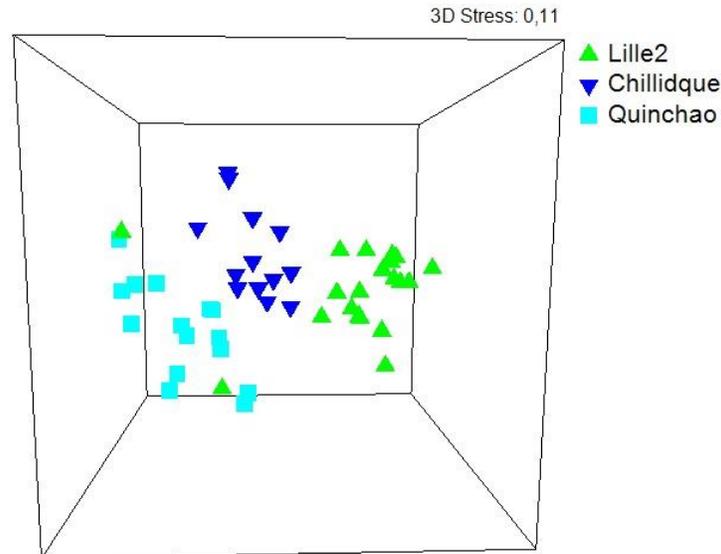


Figura 39. Análisis MDS de especies fitoplanctónicas identificadas en los diferentes centros de cultivos muestreados en la primera campaña.

Análisis temporal

Para el área de estudio con tratamiento de Azametifos (centro Lille 2), el MDS mostró dos agrupamientos de especies fitoplanctónicas durante el pre y postratamiento (Figura 40a), con un stress de 0,09 (buena bondad de ajuste). Mediante el análisis ANOSIM se determinó que existen diferencias significativas entre pre y postratamiento con un R Global de 0,428 y un $p= 0,002$.

Para el área de estudio con tratamiento de Cipermetrina (centro Chillidque), el MDS mostró dos agrupamientos de especies fitoplanctónicas durante el pre y postratamiento, con un stress de 0,1 (Figura 40b). Mediante el análisis ANOSIM se determinó que existen diferencias significativas entre pre y postratamiento con un R Global de 0,282 y un $p= 0,05$.

Para el área de estudio con tratamiento de Deltametrina (centro Quinchao), el MDS mostró dos agrupamientos de especies fitoplanctónicas durante el pre y postratamiento, con un stress de 0,09 (Figura 40c). Mediante el análisis ANOSIM se determinó que existen diferencias significativas entre pre y postratamiento con un R Global de 0,495 y un $p= 0,001$.

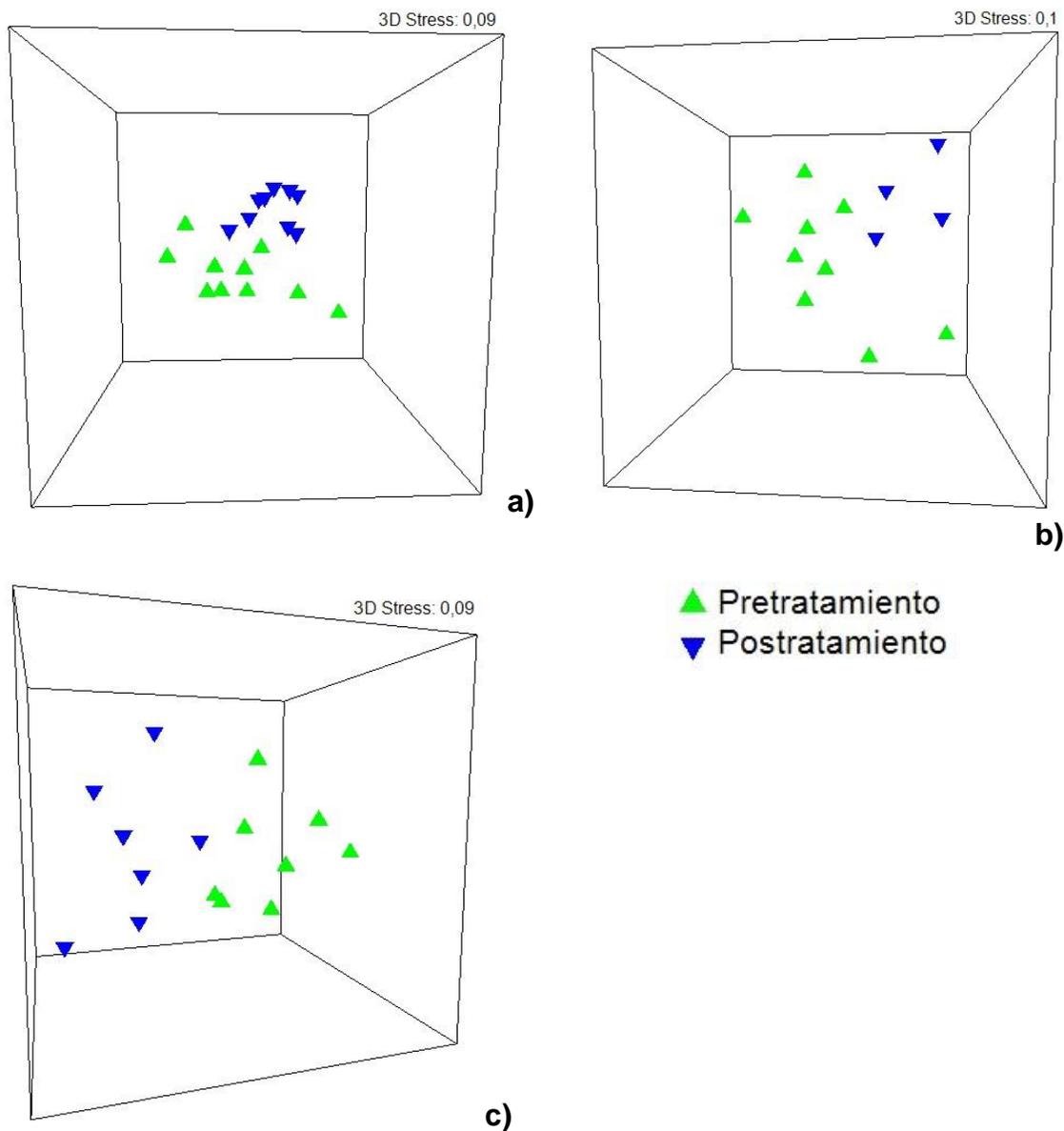


Figura 40. Análisis MDS de fitoplancton durante pre y postratamiento con antiparasitarios. a) Centro Lille 2 (Azametifos); b) Centro Chillidque (Cipermetrina) y c) Centro Quinchao (Deltametrina).

Análisis espacial

Mediante el análisis de similitud que evaluó el factor distancia (0m, 100m y 500m) en la estructura comunitaria de especies fitoplanctónicas se determinó que no existieron diferencias significativas entre las especies colectadas con respecto a la distancia al centro de cultivo (Lille 2, Chillidque y Quinchao) con un nivel de significancia mayor a 5% ($p > 0,05$).

Abundancia por grupo

Durante la primera campaña fueron identificados 95 especies fitoplanctónicas, siendo el grupo de diatomeas concéntricas y penadas las más abundantes con 37 (39%) y 35 (37%) especies, respectivamente (Figura 41). Por otro lado el grupo de los dinoflagelados presentó una riqueza específica de 13 especies (14%). Silicoflagelados y Chlorophyceae fueron las menos abundantes (1%).

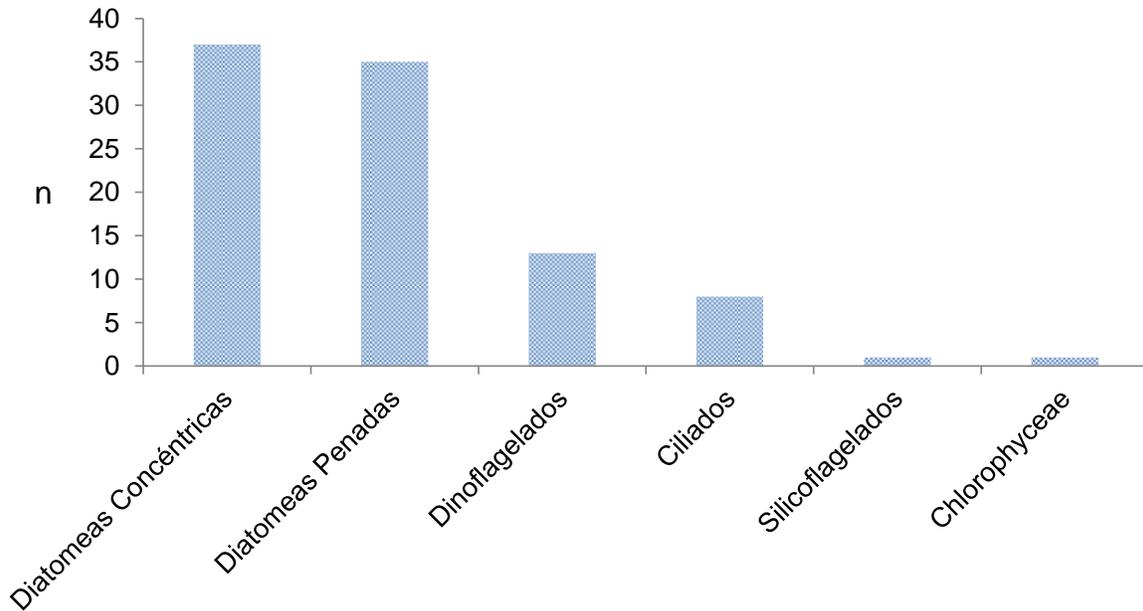


Figura 41. Número de especies fitoplanctónicas identificadas durante la primera campaña de muestreo.

En general, de acuerdo al número de individuos por sitio de muestreo se observó una mayor cantidad de diatomeas (concéntricas y penadas); dinoflagelados y ciliados.

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Lille 2 el número de individuos por grupo fue mayormente representado por diatomeas concéntricas (n= 483 individuos, 58%) y posteriormente por diatomeas penadas (n= 148, 18%) y dinoflagelados (n= 142, 17%) (Figura 42). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos, se pudo determinar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizaron un total de 421 individuos para los diferentes grupos taxonómicos decayendo posteriormente a 415 individuos luego del periodo de tratamiento (1%).

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Chillidque el número de individuos por grupo fue mayormente representado por diatomeas concéntricas (n= 324 individuos, 55%) y posteriormente por diatomeas penadas (n= 170, 29%) Dinoflagelados y silicoflagelados aportaron con 13% y 2%, respectivamente (Figura 42). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos se pudo determinar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizaron un total de 420 individuos para los diferentes grupos taxonómicos decayendo posteriormente en un 43% durante el periodo postratamiento.

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Quinchao el número de individuos por grupo taxonómico fue mayormente representado por diatomeas concéntricas (n= 352 individuos, 54%) y posteriormente por diatomeas penadas (n= 247, 38%). Dinoflagelados fue el tercer grupo con mayor representación con un 6% (Figura 42). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos se pudo determinar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizaron un total de 648 individuos para los diferentes grupos taxonómicos decayendo posteriormente en un 6% durante el periodo postratamiento.

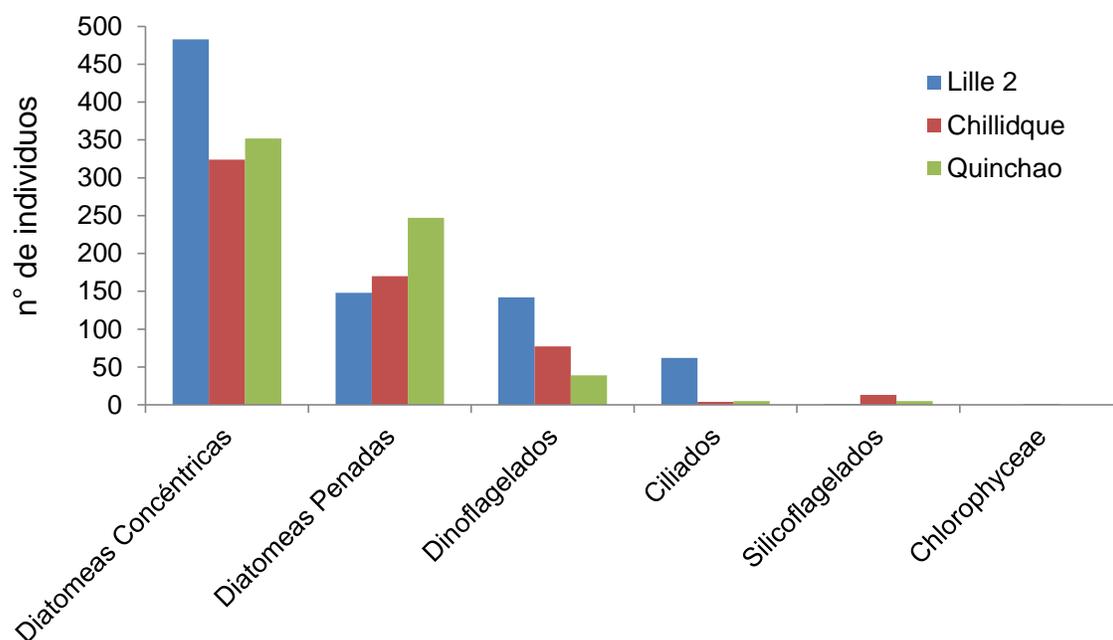


Figura 42. Número de individuos (fitoplancton) por grupo taxonómico en las diferentes áreas donde se localizaron los centros de cultivo de la primera campaña.

4.8.1.2. Campaña otoño-invierno

Índice de Diversidad

La diversidad Fito planctónica, presentó un promedio de $3,80 \pm 0,16$ Bits en el pre tratamiento (Tabla 28). La mayor diversidad se registró en el Puerto Haro (0 m) con 4,02 Bits, mientras que el mínimo de 3,46 Bits se registró en el Paso Quenu (500 m) (Figura 43).

Postratamiento, la diversidad Fitoplanctónica presentó un promedio de $3,57 \pm 0,34$ Bits (Tabla 28). La mayor diversidad se registró en el centro Puerto Haro (0 m y 500 m) con 3,93 Bits, mientras que el mínimo de 3,09 Bits se registró en el Paso Quenu (100 m) (Figura 43).

La biodiversidad, en el pre-tratamiento, presentó un promedio de $11,54 \pm 1,31$. La máxima biodiversidad se registró en el centro Puerto Haro (0 m) con un $D = 13,66$. Por otra parte, el mínimo se registró en el Paso Quenu (500 m) con un $D = 8,94$ (Tabla 28).

Postratamiento, la biodiversidad presentó un promedio de $9,97 \pm 2,51$. La máxima biodiversidad se registró en el centro Puerto Haro (0 m y 500 m) con un $D = 12,72$. Por otra parte, el mínimo se registró en el Paso Quenu con un $D = 6,79$ (Tabla 28).

Tabla 28. Parámetros comunitarios por estación: índice biodiversidad de Margalef e índice de diversidad de Shannon (H') para pre tratamiento y pos tratamiento.

Pre tratamiento	Punta Lucu			Paso Quenu			Puerto Haro		
	0m	100m	500m	0m	100m	500m	0m	100m	500m
Biodiversidad	12,14	11,36	11,36	12,72	10,77	8,94	13,66	11,36	11,56
H'	3,87	3,78	3,78	3,93	3,71	3,46	4,02	3,78	3,80
Biodiversidad promedio	$11,54 \pm 1,31$								
H' promedio	$3,80 \pm 0,16$								

Post tratamiento	Punta Lucu			Paso Quenu			Puerto Haro		
	0m	100m	500m	0m	100m	500m	0m	100m	500m
Biodiversidad	12,53	8,31	8,10	8,10	6,79	8,10	12,72	12,33	12,72
H'	3,91	3,36	3,33	3,33	3,09	3,33	3,93	3,89	3,93
Biodiversidad promedio	9,97 ± 2,51								
H' promedio	3,57 ± 0,34								

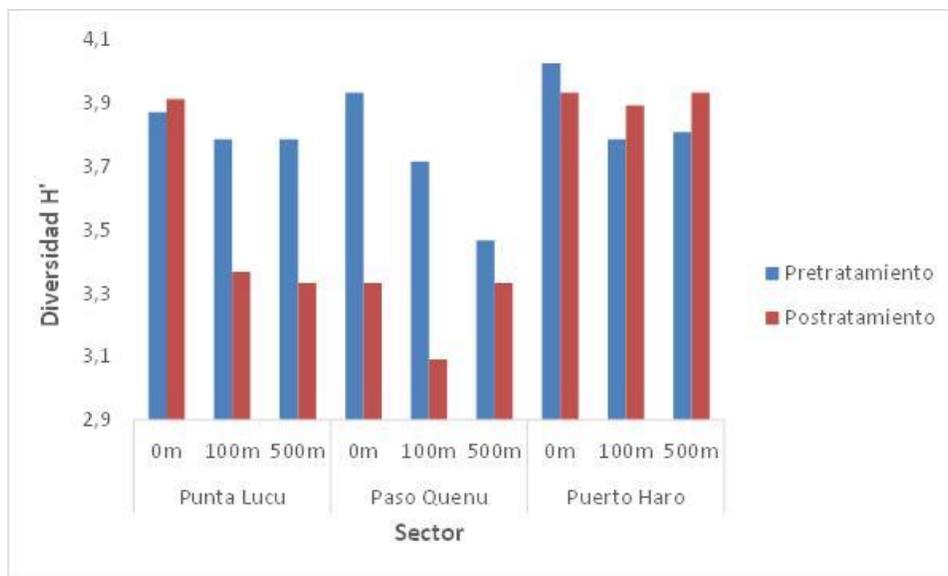


Figura 43. Composición espacial de la diversidad de Shannon (H') del fitoplancton en pre y pos tratamiento.

Análisis mutivariado

Mediante un análisis general de abundancia de especies fitoplanctónicas en los 3 centros de cultivo para la segunda campaña de muestreo se observó diferencias significativas ($R_{\text{Global}} = 0,685$; $p = 0,001$) entre las especies identificadas en las distintas áreas de estudio con antiparasitarios (Figura 44).

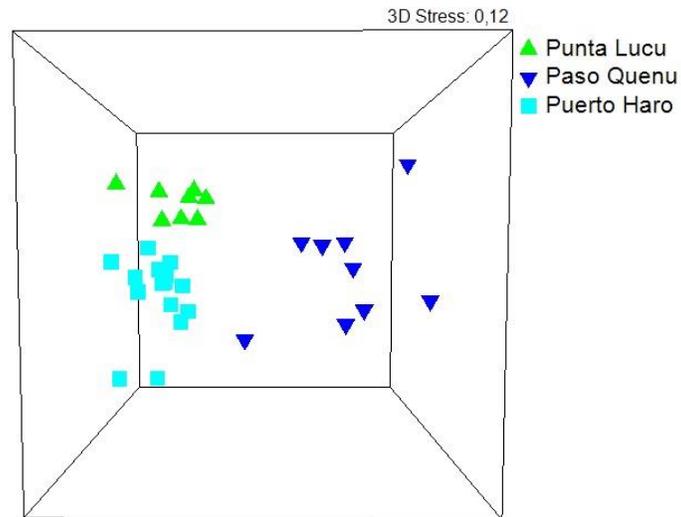


Figura 44. Análisis MDS de especies fitoplanctónicas identificadas en los diferentes centros de cultivos mestreados en la segunda campaña.

Análisis temporal

Para el área de estudio con tratamiento de Azametifos (centro Punta Lucu), el MDS mostró dos agrupamientos de especies fitoplanctónicas durante el pre y postratamiento (Figura 45a), con un stress de 0,01 (buena bondad de ajuste), lo cual indica que la representación es cercana a la realidad y que probablemente ambos grupos son diferentes. Mediante el análisis ANOSIM se determinó que no existen diferencias significativas entre pre y postratamiento, determinándose un R Global de 0,323 y $p > 0,05$.

Para el área de estudio con tratamiento de Cipermetrina (centro Paso Quenu), el MDS mostró dos agrupamientos de especies fitoplanctónicas durante el pre y postratamiento (Figura 45b), con un stress de 0,03 (buena bondad de ajuste), lo cual indica que la representación es cercana a la realidad y que probablemente ambos grupos son diferentes. Mediante el análisis ANOSIM se determinó que existen diferencias significativas entre pre y postratamiento con un R Global de 0,334 y $p = 0,032$.

Para el área de estudio con tratamiento de Deltametrina (centro Puerto Haro), el MDS mostró dos agrupamientos de especies fitoplanctónicas durante el pre y postratamiento (Figura 45c), con un stress de 0,1 (buena bondad de ajuste), lo cual indica que la representación es cercana a la realidad y que probablemente ambos grupos son diferentes. Mediante el análisis ANOSIM se determinó que existen diferencias significativas entre pre y postratamiento con un R Global de 0,555 y $p = 0,001$.

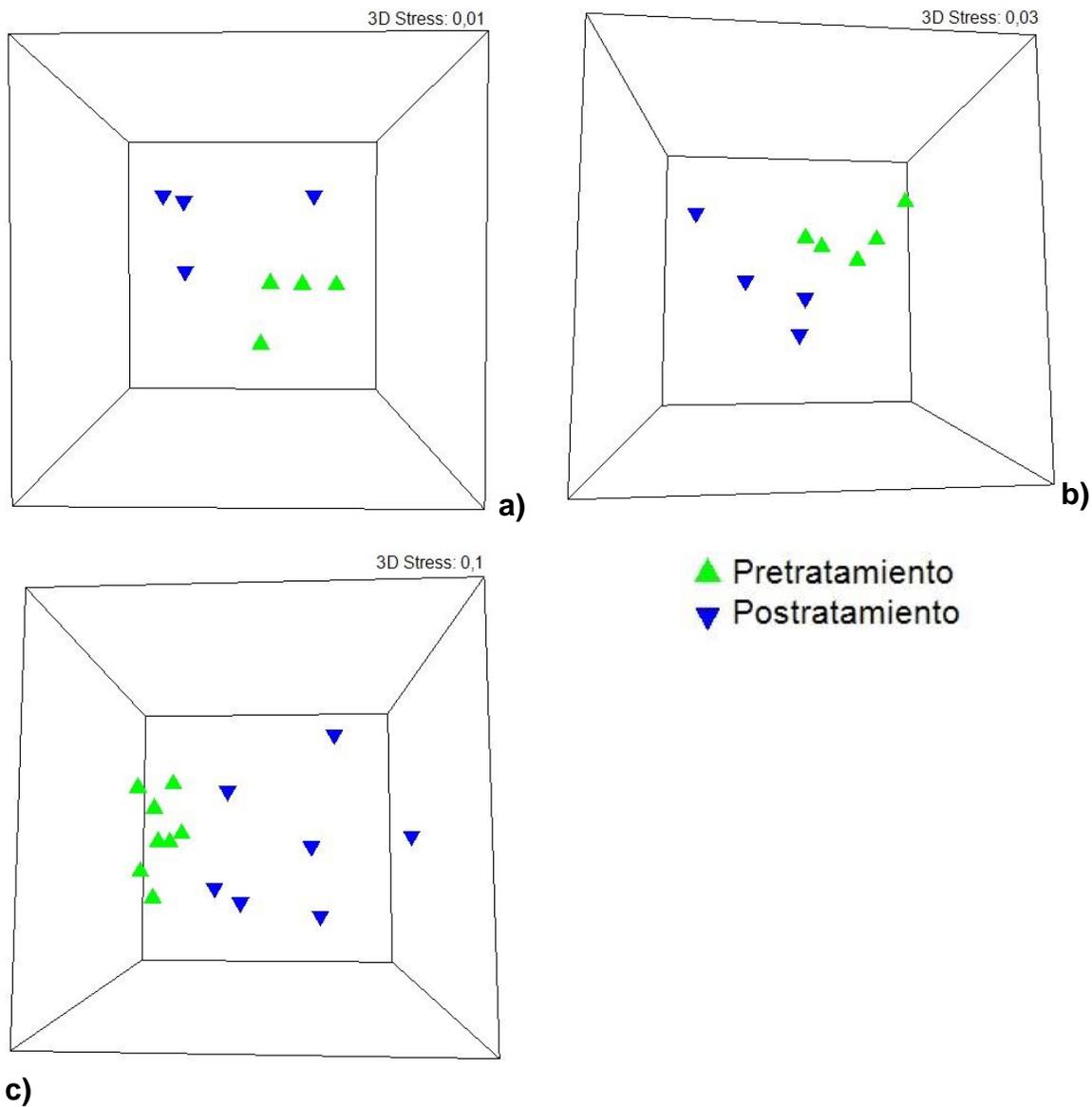


Figura 45. Análisis MDS de fitoplancton durante pre y postratamiento con antiparasitarios. a) Centro Punta Lucu (Azametifos); b) Centro Paso Quenu (Cipermetrina) y c) Centro Puerto Haro (Deltametrina).

Análisis espacial

Mediante el análisis de similitud que evaluó el factor distancia (0m, 100m y 500m) en la estructura comunitaria de especies fitoplanctónicas se determinó que no existieron diferencias significativas entre las especies colectadas con respecto a la distancia al centro de cultivo (Punta Lucu, Paso Quenu y Puerto Haro) con un nivel de significancia mayor a 0,05.

Abundancia por grupo

Durante la segunda campaña fueron identificados un total de 96 especies fitoplanctónicas, siendo el grupo de diatomeas concéntricas y penadas las más abundantes con 35 (36%) y 40 (42%) especies, respectivamente. Por otro lado, el grupo de los dinoflagelados y ciliados presentaron una riqueza específica de 11 (11%) y 7 (7%) especies (Figura 46). Silicoflagelados, Chlorophyceae y Zygnematophyceae fueron las menos abundantes (1%).

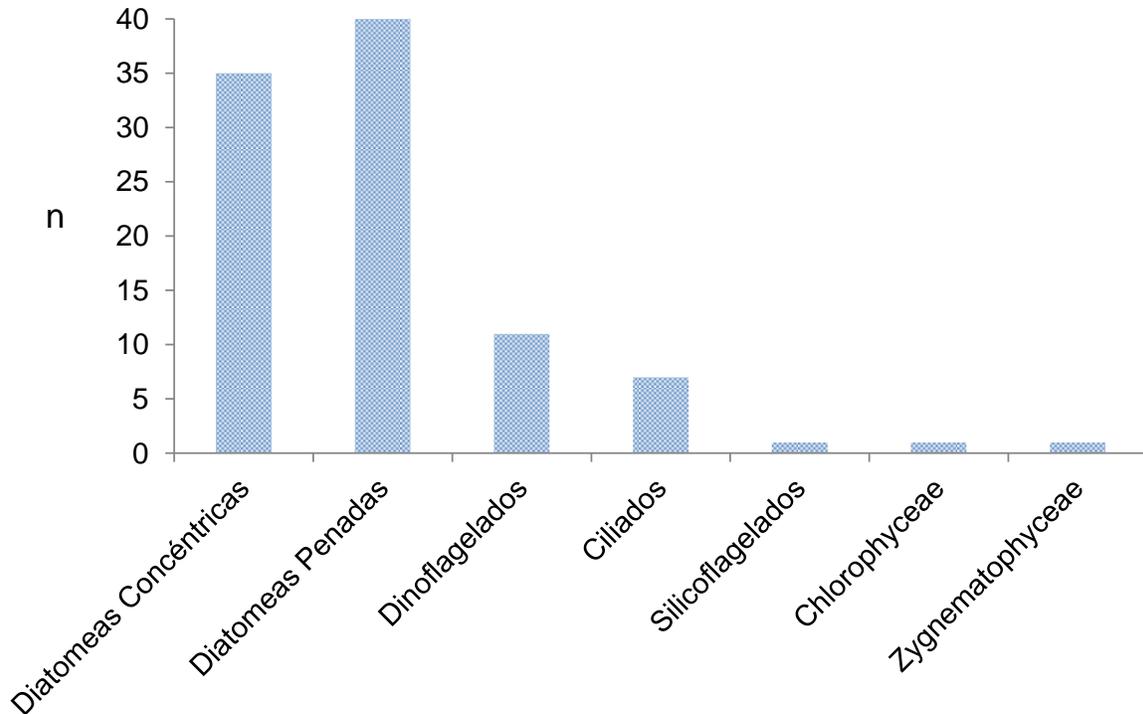


Figura 46. Número de especies fitoplanctónicas identificadas durante la segunda campaña de muestreo.

En general, de acuerdo al número de individuos por sitio de muestreo se observó una mayor cantidad de diatomeas (concéntricas y penadas); dinoflagelados y ciliados.

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Punta Lucu el número de individuos por grupo fue mayormente representado por diatomeas concéntricas (n= 121 individuos, 42%) y posteriormente por diatomeas penadas (n= 126, 44%) y ciliados (n= 19, 7%) (Figura 47). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos se pudo determinar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizaron un total de 154 individuos para los diferentes grupos taxonómicos decayendo posteriormente a 133 individuos (7%), luego del periodo de tratamiento.

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Paso Quenu el número de individuos por grupo fue mayormente representado por diatomeas concéntricas (n= 110 individuos, 44%) y posteriormente por diatomeas penadas (n= 100, 40%) Dinoflagelados, ciliados y silicoflagelados aportaron con un 8%, 7% y 2%, respectivamente (Figura 47). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos se pudo determinar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizó un total de 156 individuos para los diferentes grupos taxonómicos decayendo posteriormente en un 24% para el periodo postratamiento.

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Puerto Haro el número de individuos por grupo taxonómico fue mayormente representado por diatomeas concéntricas (n= 257 individuos, 48%) y posteriormente por diatomeas penadas (n= 225, 42%). Dinoflagelados y ciliados fueron los siguientes grupos con mayor con mayor número de individuos en el área de estudio con un 4% y 3%, respectivamente. Para el grupo de las Chlorophyceae y Zygnematoxycyceae se reportó un mayor numero de individuos en comparación a los otros sitios durante la campaña otoño.invierno (Figura 47). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos se pudo determinar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizaron un total de 288 individuos para los diferentes grupos taxonómicos decayendo posteriormente en un 7% para el periodo postratamiento.

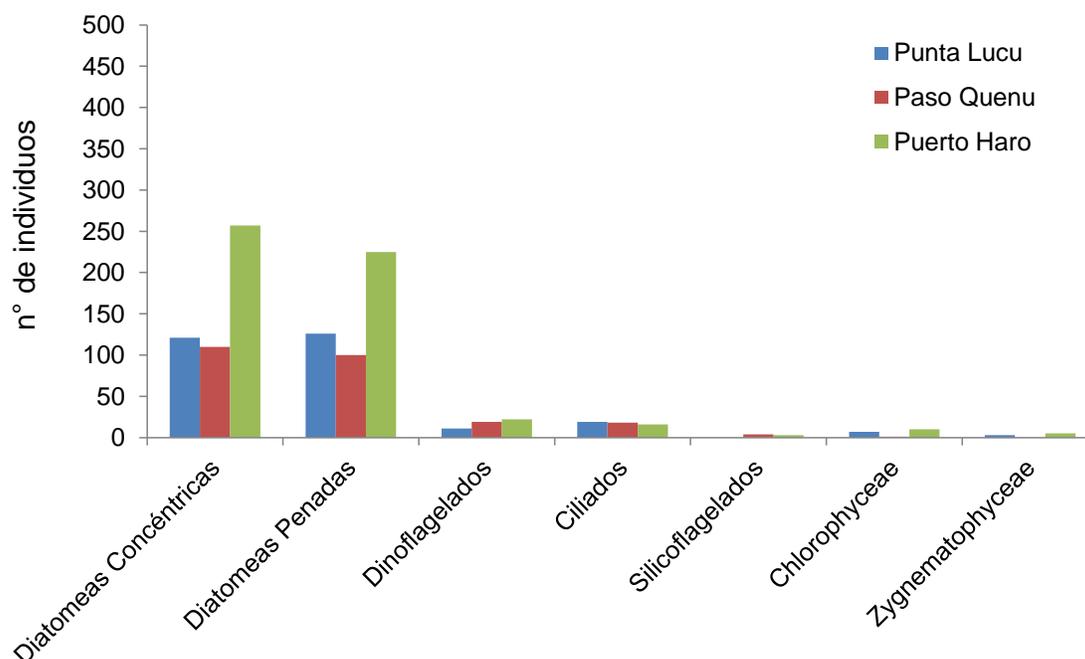


Figura 47. Número de individuos (fitoplancton) por grupo taxonómico en las diferentes áreas donde se localizaron los centros de cultivo de la segunda campaña.

4.8.2. Bentos

4.8.2.1. Campaña primavera-verano

Índice de Diversidad

La diversidad bentónica, presentó un promedio de $1,60 \pm 1,11$ Bits en el pretratamiento (Tabla 29). La mayor diversidad se registró en el centro Lille 2 (500 m) con 3,04 Bits, mientras que el mínimo de 0,00 Bits se registró en el centro Chillidque (0 m y 500 m) (Figura 48).

Postratamiento, la diversidad bentónica presentó un promedio de $1,84 \pm 0,53$ Bits (Tabla 29). La mayor diversidad se registró en el centro Quinchao (500 m) con 2,48 Bits, mientras que el mínimo de 0,69 Bits se registró en el centro Quinchao (0 m) (Figura 48).

La biodiversidad, en el pretratamiento, presentó un promedio de $3,69 \pm 1,62$. La máxima biodiversidad se registró en el centro Lille 2 (0 m) con un $D = 4,42$. Por otra parte, el mínimo se registró en el centro Quinchao(0 m) con un $D = 1,44$ (Tabla 29).

Postratamiento, la biodiversidad presentó un promedio de $3,04 \pm 0,87$. La máxima biodiversidad se registró en el centro Quinchao (500 m) con un $D = 4,42$. Por otra parte, el mínimo también se registró en los centro Quinchao (0 m) con un $D = 1,44$ (Tabla 29).

Tabla 29. Parámetros comunitarios por estación: índice biodiversidad de Margalef e índice de diversidad de Shannon (H') para pre tratamiento y pos tratamiento.

Pre tratamiento	Lille 2			Chillidque			Quinchao		
	0m	100m	500m	0m	100m	500m	0m	100m	500m
Biodiversidad	4,42	3,90	6,56	****	3,90	****	1,44	3,08	2,48
H'	2,48	2,30	3,04	0	2,30	0	0,69	1,94	1,60
Biodiversidad promedio	$3,69 \pm 1,62$								
H' promedio	$1,60 \pm 1,11$								

Post tratamiento	Lille 2			Chillidque		Quinchao		
	0m	100m	500m	100m	500m	0m	100m	500m
Biodiversidad	2,79	3,64	3,08	2,48	3,08	1,44	3,36	4,42
H'	1,79	2,19	1,94	1,60	1,94	0,69	2,07	2,48
Biodiversidad promedio	3,04 ± 0,87							
H' promedio	1,84 ± 0,53							

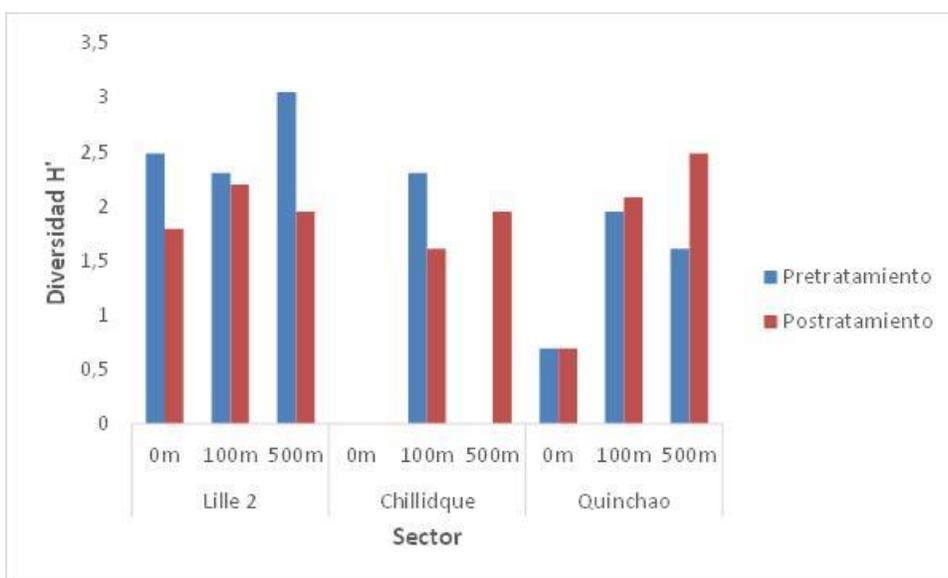


Figura 48. Composición espacial de la diversidad de Shannon (H') del fitoplancton en pre y pos tratamiento.

Análisis multivariado

Mediante un análisis general de abundancia de especies bentónicas en los 3 centros de cultivo para la primera campaña de muestreo se observó diferencias significativas ($R_{Global} = 0,209$; $p = 0,001$) entre las especies identificadas en las distintas áreas de estudio con antiparasitarios (Figura 49). No obstante, dentro de las especies identificadas para las zonas donde se localizaron los Centros de cultivo Chillidque y Quinchao no se reportan una diferencias significativas ($p > 0,05$).

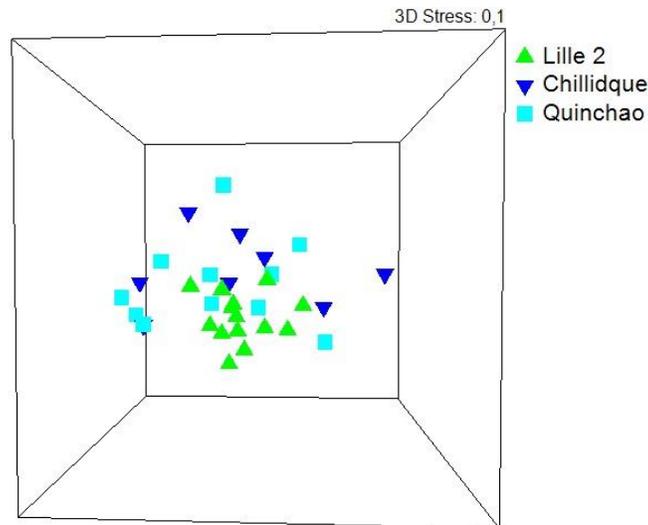


Figura 49. Análisis MDS de especies bentónicas identificadas en los diferentes centros de cultivos mestreados en la primera campaña.

Análisis Temporal

Mediante el análisis de similitud que evaluó el factor tratamiento (Pre y Postratamiento) en la estructura comunitaria de especies bentónicas se determinó que no existieron diferencias significativas entre las especies colectadas con respecto al tiempo de colectada las muestras para cada uno de los centros de cultivo de la primera campaña (Lille 2, Chillidque y Quinchao), determinándose un nivel de significancia mayor a 0,05.

Análisis espacial

Mediante el análisis de similitud que evaluó el factor distancia (0m, 100m y 500m) en la estructura comunitaria de especies bentónicas se determinó que no existieron diferencias significativas entre las especies colectadas con respecto a la distancia al centro de cultivo (Lille 2, Chillidque y Quinchao) con un nivel de significancia mayor a 0,05.

Abundancia por grupo

Durante la primera campaña fueron identificadas 37 especies bentónicas, siendo el grupo de los poliquetos los más abundantes, con una riqueza específica de 19 (51%) especies (Figura 50). Por otro lado el grupo de los crustáceos, bivalvos y equinodermos fueron representados por 6 (16%), 5 (14%) y 5 (14%) especies, respectivamente.

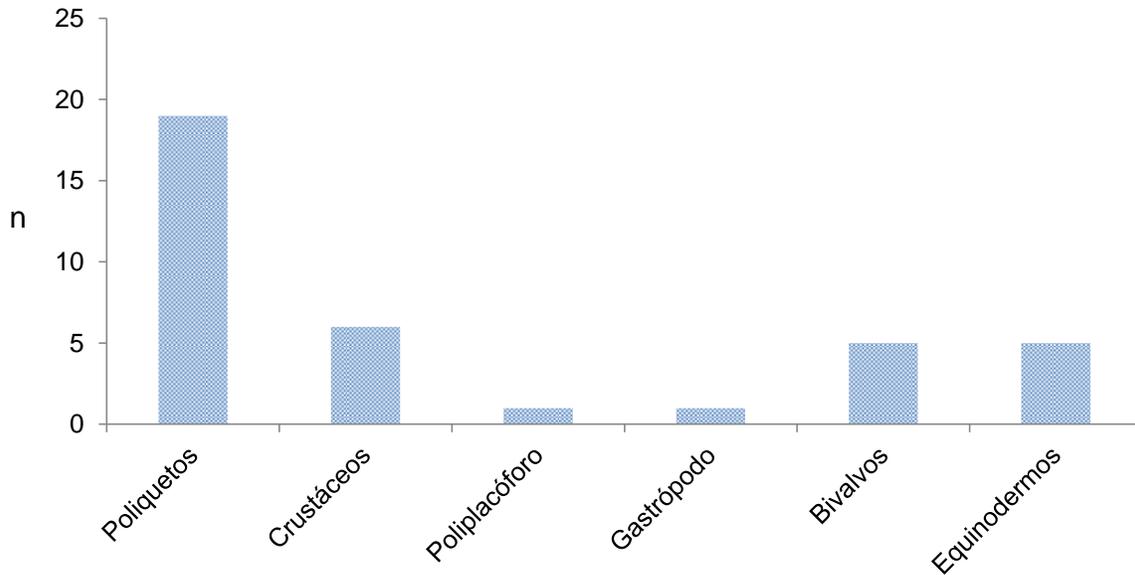


Figura 50. Número de especies bentónicas identificadas durante la primera campaña de muestreo.

En general, de acuerdo al número de individuos por sitio de muestreo se observó una mayor cantidad de poliquetos, crustáceos, bivalvos y equinodermos.

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Lille 2 el número de individuos por grupo fue mayormente representado por poliquetos ($n= 62$ individuos, 71%), crustáceos y bivalvos ($n= 9$, 10%). Por otro lado, se pudo observar la presencia de una especie representante en los grupos taxonómicos poliplacóforo (*Leptochiton* sp.) y gastrópodo (*Crepidula* sp.). Equinodermos representan un 5% (Figura 51). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos se pudo determinar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizó un total de 62 individuos para los diferentes grupos taxonómicos decayendo en un 43% (25 individuos) para el periodo postratamiento.

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Chillidque el número de individuos por grupo fue mayormente representado por poliquetos ($n= 16$ individuos, 62%) y posteriormente por crustáceos ($n=5$, 19%) y equinodermos ($n= 4$, 15%) (Figura 51). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos se pudo observar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizaron un total de 14 individuos para los diferentes grupos taxonómicos decayendo posteriormente en un 8% el número de individuos ($n=12$) durante el periodo postratamiento.

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Quinchao el número de individuos por grupo taxonómico fue mayormente representado por poliquetos ($n= 27$ individuos, 64%) y posteriormente por crustáceos ($n= 9$, 21%) (Figura 51). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos se pudo

determinar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizó un total de 17 individuos para los diferentes grupos taxonómicos, no obstante, durante el periodo postratamiento se observó un incremento del 19% (n total=42 individuos) en el número de individuos para poliquetos, bivalvos y equinodermos.

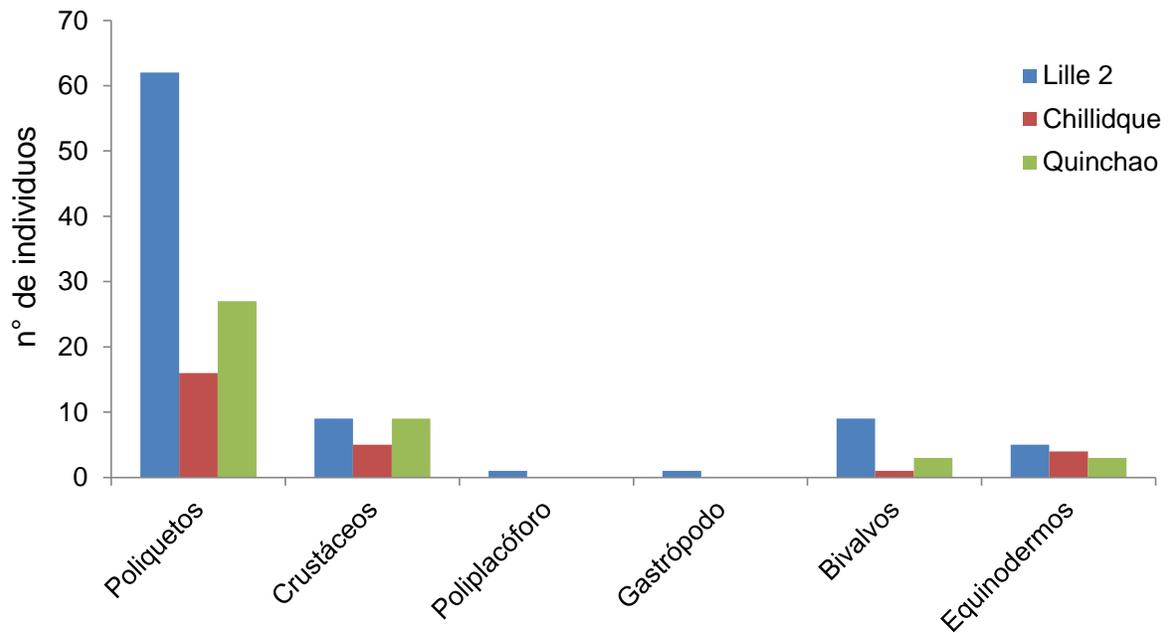


Figura 51. Número de individuos (bentos) por grupo taxonómico en las diferentes áreas donde se localizaron los centros de cultivo de la primera campaña.

4.8.2.2. Campaña otoño-invierno

Índice de Diversidad

La diversidad bentónica, presentó un promedio de $1,94 \pm 0,78$ Bits en el pretratamiento (Tabla 30). La mayor diversidad se registró en el Paso Quenu (100 m) con 2,70 Bits, mientras que el mínimo de 0,69 Bits se registró en Punta Lucu (0 m) y Paso Quenu (500m) (Figura 52).

Postratamiento, la diversidad bentónica presentó un promedio de $1,90 \pm 0,48$ Bits (Tabla 30). La mayor diversidad se registró en el Paso Quenu (100 m) con 2,83 Bits, mientras que el mínimo de 1,38 Bits se registró en Punta Lucu (100 m) y Puerto Haro (100 m) (Figura 52).

La biodiversidad, en el pre-tratamiento, presentó un promedio de $3,45 \pm 1,40$. La máxima biodiversidad se registró en el Paso Quenu (100 m) con un $D = 5,17$. Por otra parte, el mínimo se registró en Punta Lucu (0 m) y Paso Quenu (500 m) con un $D = 1,44$ (Tabla 30).

Postratamiento, la biodiversidad presentó un promedio de $3,15 \pm 1,12$. La máxima biodiversidad se registró en el Paso Quenu (100 m) con un $D = 5,64$. Por otra parte, el mínimo se registró en Punta Lucu (100 m) y Puerto Haro (100 m) con un $D = 2,16$ (Tabla 30).

Tabla 30. Parámetros comunitarios por estación: índice biodiversidad de Margalef e índice de diversidad de Shannon (H') para pre tratamiento y pos tratamiento.

Pre tratamiento	Punta Lucu			Paso Quenu			Puerto Haro		
	0m	100m	500m	0m	100m	500m	0m	100m	500m
Biodiversidad	1,44	4,17	3,64	4,92	5,17	1,44	2,48	3,36	4,42
H'	0,69	2,39	2,19	2,63	2,70	0,69	1,60	2,07	2,48
Biodiversidad promedio	$3,45 \pm 1,40$								
H' promedio	$1,94 \pm 0,78$								

Post tratamiento	Punta Lucu			Paso Quenu			Puerto Haro		
	0m	100m	500m	0m	100m	500m	0m	100m	500m
Biodiversidad	3,64	2,16	2,48	3,90	5,64	3,08	2,79	2,16	2,48
H'	2,19	1,38	1,60	2,30	2,83	1,94	1,79	1,38	1,60
Biodiversidad promedio	3,15 ± 1,12								
H' promedio	1,90 ± 0,48								

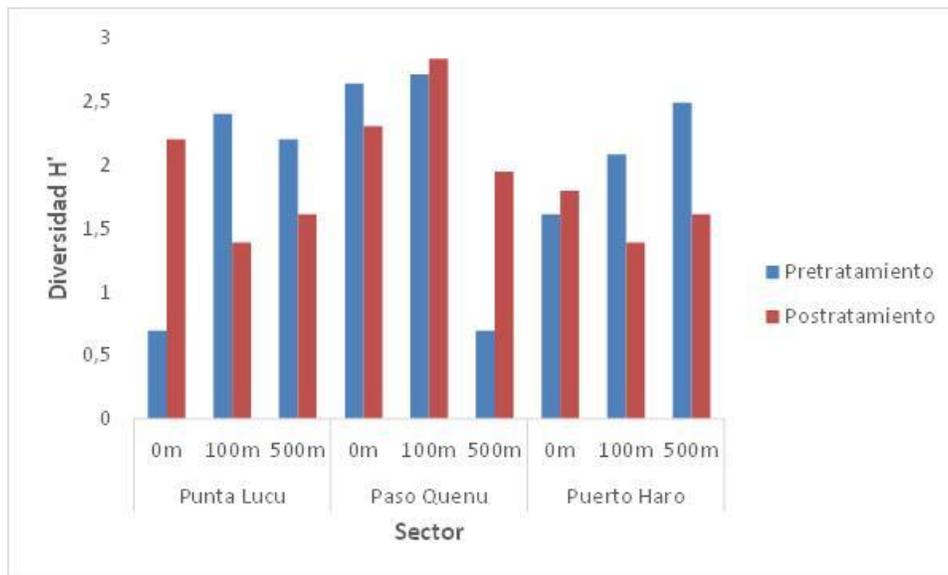


Figura 52. Composición espacial de la diversidad de Shannon (H') del fitoplancton en pre y postratamiento.

Análisis multivariado

Mediante un análisis general de abundancia de especies bentónicas en los 3 centros de cultivo para la segunda campaña de muestreo se observó diferencias significativas ($R_{Global} = 0,255$; $p = 0,001$) entre las especies identificadas en las distintas áreas de estudio con antiparasitarios (Figura 53). No obstante, dentro de las especies identificadas para las zonas donde se localizaron los centros de cultivo Punta Lucu y Puerto Haro no se reportan diferencias significativas ($p > 0,05$).

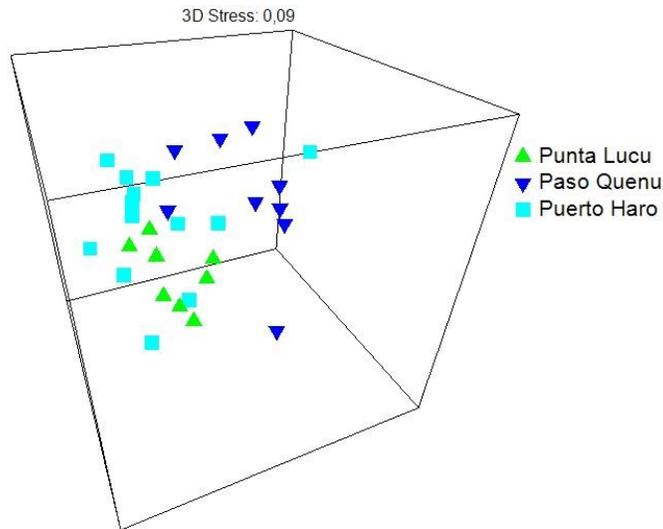


Figura 53. Análisis MDS de especies bentónicas identificadas en los diferentes centros de cultivos mestreados en la segunda campaña.

Análisis Temporal

Mediante el análisis de similitud que evaluó el factor tratamiento (Pre y Postratamiento) en la estructura comunitaria de especies bentónicas se determinó que no existieron diferencias significativas entre las especies colectadas con respecto al tiempo de colectada las muestras para cada uno de los centros de cultivo de la segunda campaña (Punta Lucu, Paso Quenu y Puerto Haro), determinándose un nivel de significancia mayor a 0,05.

Análisis espacial

Mediante el análisis de similitud que evaluó el factor distancia (0m, 100m y 500m) en la estructura comunitaria de especies bentónicas se determinó que no existieron diferencias significativas entre las especies colectadas con respecto a la distancia al centro de cultivo con un nivel de significancia mayor a 0,05.

Abundancia por grupo

Durante la segunda campaña fueron identificadas 52 especies bentónicas, siendo el grupo de los poliquetos los más abundantes, con una riqueza específica de 19 (37%) especies (Figura 54). Por otro lado el grupo de los crustáceos, gastrópodos, bivalvos y equinodermos fueron representados por 6 (12%), 7 (13%), 7 (13%) y 5 (10%) especies, respectivamente. Además, para esta campaña fueron identificadas

nuevas especies representantes de los grupos Anthozoa, Anelido, Bryozoo, Actinia y Braquiopodo, representando un 2% cada una.

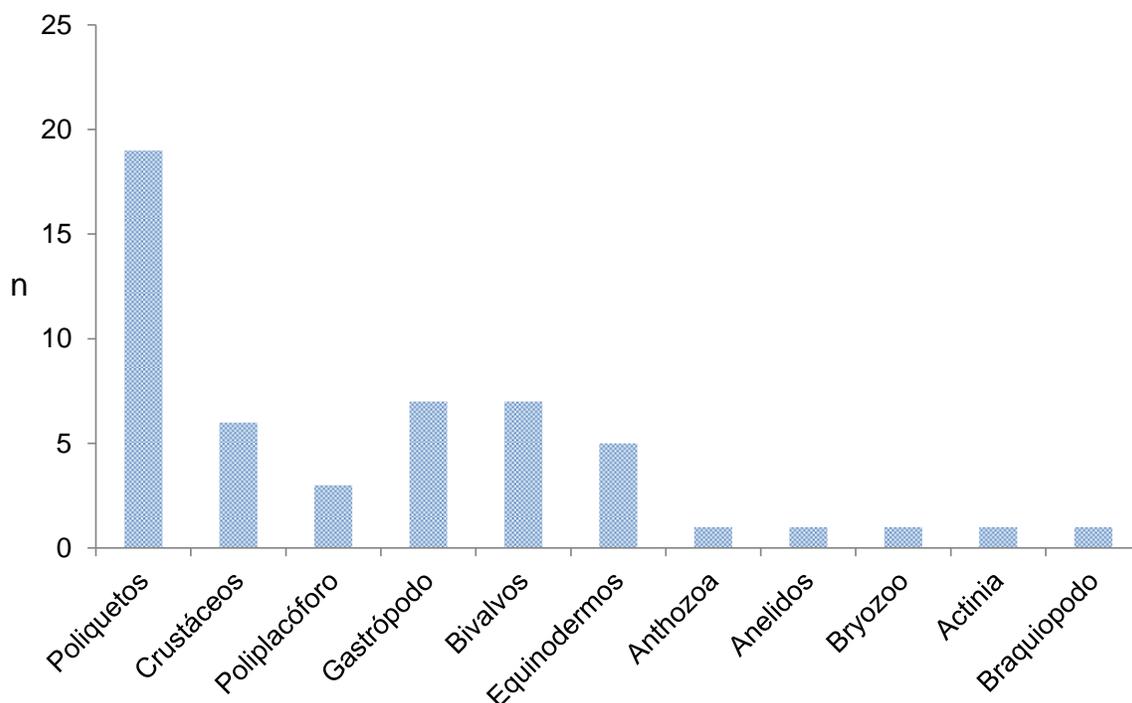


Figura 54. Número de especies bentónicas identificadas durante la segunda campaña de muestreo.

En general, de acuerdo al número de individuos por sitio de muestreo se observó una mayor cantidad de poliquetos (>27%), bivalvos y gastrópodos.

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Punta Lucu el número de individuos por grupo fue mayormente representado por poliquetos (n= 28 individuos, 60%), gastrópodos (n= 7, 15%) y bivalvos (n= 8, 17%) (Figura 55). Crustáceos y equinodermos presentaron el menor número de individuos durante la campaña otoño-invierno. De un total de 25 individuos identificados durante pretratamiento, solamente 22 individuos fueron identificados durante el postramiento (disminución del 6%).

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Paso Quenu el número de individuos por grupo fue mayormente representado por poliquetos (n= 20 individuos, 27%) y posteriormente bivalvos (n=14, 19%), poliplacóforos (n=10, 14%) y gastrópodos (n= 10, 14%). Por otro lado, los equinodermos en esta área de estudio mostraron el mayor número de individuos (n=8) en comparación a los otras áreas de estudio de la segunda campaña (Figura 55). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos se pudo observar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizó un total de 34 individuos para los diferentes

grupos taxonómicos, incrementando su número a 40 durante el periodo postratamiento.

Para el área donde se localizó el centro de cultivo Puerto Haro el número de individuos por grupo taxonómico fue mayormente representado por poliquetos (n= 21 individuos, 47%) y posteriormente bivalvos (n= 11, 24%). Para esta área de estudio nuevos grupos aparecieron, tales como: anélido (n=1), bryozoo (n=2), actinia (n=1) y braquiopodo (n=1) (Figura 55). Al considerar el factor tiempo en el análisis de abundancia de individuos se pudo determinar que durante la semana previa al tratamiento se contabilizó un total de 29 individuos para los diferentes grupos taxonómicos, disminuyendo posteriormente a 16 (22%) durante el muestreo postratamiento.

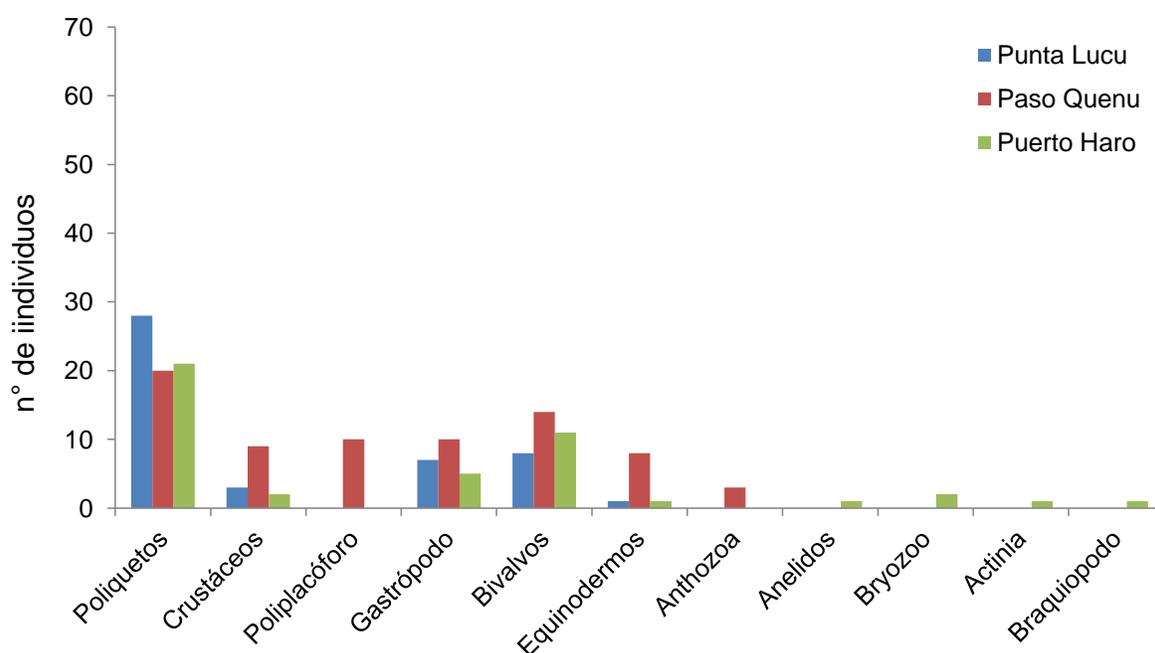


Figura 55. Número de individuos (bentos) por grupo taxonómico en las diferentes áreas donde se localizaron los centros de cultivo de la segunda campaña.

4.9. Bioensayos de toxicidad en larvas de mitílidos.

4.9.1. Mortalidad y fijación de la larva premetamórfica

Cipermetrina, producto puro

El resultado de la exposición de las larvas a una serie de concentraciones de cipermetrina se presenta en la Tabla 31.

Tabla 31. Número de larvas premetamórficas de *M. chilensis* muertas y fijadas al envase después de una exposición a cipermetrina por 48 horas.

Concentración (µg/L)	Número de larvas muertas y número de larvas fijadas al envase							
	Réplica 1 Muertas - Fijadas		Réplica 2 Muertas - Fijadas		Réplica 3 Muertas - Fijadas		% total larvas Muertas -Fijadas	
Control agua (0)		26		20		21		74,4
Control acetona		22		25		24		78,8
0,05		24		23		25		81,1
0,5		20		24		22		73,3
5	4	23		23		20	4,4	73,3
50		20		19		25		65,5
500		20		20		23		70

Las larvas premetamórficas de *Mytilus chilensis* expuestas por 48 horas a concentraciones crecientes de cipermetrina hasta una concentración de 500 µg/L no manifestaron efectos adversos al fármaco. El asentamiento o fijación de las larvas al envase o entre ellas no se diferencia estadísticamente entre los tratamientos y el control (anexo VI).

Con respecto a la mortalidad, solo un envase con 5 µg/L de cipermetrina registró 4 larvas muertas de 30 expuestas. No se ensayaron concentraciones mayores a 500 µg/L de Cipermetrina pura ya que los fármacos veterinarios contienen solo un 5 % del ingrediente activo y las concentraciones de uso de éstos son muy inferiores a las evaluadas en este bioensayo.

En el análisis estadístico de los datos del bioensayo se utilizó el test de Dunnett del paquete estadístico Toxstat (anexo VI).

CONCLUSIÓN:

- La concentración de uso de cipermetrina en el tratamiento de *Caligus* sp. en jaulas de salmones (15 µg/L) carecería de riesgo letal y de efecto inhibitorio sobre el asentamiento de la larva de *Mytilus chilensis*.

Cipermetrina, producto comercial

El resultado de la exposición de las larvas a una serie de concentraciones de Betamax® (cipermetrina) se presenta en la Tabla 32.

Tabla 32. Número de larvas premetamórficas de *M. chilensis* muertas y fijadas al envase después de una exposición a cipermetrina formulación comercial por 48 horas.

Concentración cipermetrina (µg/L)	Número de larvas muertas y de larvas fijadas al envase de 30 expuestas							
	Réplica 1 Muertas - Fijadas		Réplica 2 Muertas – Fijadas		Réplica 3 Muertas – Fijadas		% total larvas Muertas -Fijadas	
Control agua (0)		17		15		20		57,8
100		18		13		8		43,3
200		15		15		11		45,5
400		16		11		9		40
800		7		5		7		21,1
1600		8		5		9		24,4

Las larvas premetamórficas de *Mytilus chilensis* expuestas por 48 horas a concentraciones crecientes de cipermetrina, hasta una concentración de 400 µg/L no manifestaron efectos adversos al fármaco. El asentamiento o fijación de las larvas al envase o entre ellas no se diferencia estadísticamente ($p > 0,05$) entre el control y las concentraciones de 100, 200 y 400 µg/L (anexo VI). Las exposiciones a 800 y 1600 µg/L redujo a la mitad aproximadamente la fijación medida en el control. No hubo mortalidad en ninguna concentración del fármaco.

En el análisis estadístico de los datos del bioensayo se utilizó el test de Dunnett del paquete estadístico Toxstat (anexo VI).

CONCLUSIÓN:

- La concentración de uso del producto comercial Betamax® (0,3 mL/m³ de agua, equivalente a una dosis de principio activo de 15 µg/L) en el tratamiento de *Caligus* sp. en jaulas de salmones carecería de riesgo letal y de efecto inhibitorio sobre el asentamiento de la larva de *Mytilus chilensis* en exposiciones de 48 horas.

Deltametrina, producto puro

El resultado de la exposición de las larvas a una serie de concentraciones de deltametrina pura se presenta en la Tabla 33.

Tabla 33. Número de larvas premetamórficas de *M. chilensis* muertas y fijadas al envase después de una exposición a deltametrina por 48 horas.

Concentración (µg/L)	Número de larvas muertas y número de larvas fijadas al envase						
	Réplica 1 Muertas - Fijadas		Réplica 2 Muertas – Fijadas		Réplica 3 Muertas - Fijadas		% total larvas Muertas -Fijadas
Control agua (0)		25		22		26	81,1
Control acetona		26		26		22	82,2
0,1		27		25		19	78,8
1		25		21		26	80
10		22		25		21	75,5
100		23		25		20	75,5
1000		19		23		24	72,2

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el número de larvas de *Mytilus chilensis* fijadas al envase de experimentación entre el grupo control y los tratamientos (anexo VI). El grupo de larvas del control acetona, expuestas a la máxima concentración del solvente usado para disolver 1000 µg/L de deltametrina, tampoco difiere del control con solo agua. La máxima concentración de Deltametrina pura (1000 µg/L) ensayada es 500 veces superior a la utilizada en el tratamiento terapéutico para combatir el *Caligus* sp. en salmones, por lo tanto, no se esperarían efectos adversos en la fijación de las larvas de *Mytilus chilensis* en las cercanías a los centros salmonicultores.

En el análisis estadístico de los datos del bioensayo se utilizó el test de Dunnett del paquete estadístico Toxstat (Anexo VI).

CONCLUSIÓN:

- Concentraciones de Deltametrina (compuesto puro) son muy superiores a las usadas en el control del *Caligus*, por lo que no hubo un efecto inhibitorio en el asentamiento larval de *Mytilus chilensis*.
- En el rango de concentraciones evaluado tampoco se observó mortalidad de larvas en exposiciones de 48 h.

Deltametrina, producto comercial

El resultado de la exposición de las larvas a una serie de concentraciones de AMX[®] (deltametrina) se presenta en la Tabla 34.

Tabla 34. Número de larvas premetamórficas de *M. chilensis* muertas y fijadas al envase después de una exposición a deltametrina formulación comercial por 48 horas.

Concentración deltametrina (µg/L)	Número de larvas muertas y de larvas fijadas al envase, de 30 expuestas							
	Réplica 1 Muertas - Fijadas		Réplica 2 Muertas – Fijadas		Réplica 3 Muertas – Fijadas		% total larvas Muertas -Fijadas	
Control agua (0)		16	1	10	2	12	3,3	42,2
15,62	1	18		15		20	1,1	58,9
31,25		20	2	18		16	2,2	60
62,5		20	1	17	1	15	2,2	57,8
125	1	23	2	21		23	3,3	74,4
250	3	25		23		23	3,3	78,9
500		27	2	24	1	25	3,3	84,4
1000	1	25		29	1	21	2,2	83,3

Las larvas premetamórficas de *Mytilus chilensis* expuestas por 48 horas a concentraciones crecientes de deltametrina, hasta una concentración de 1000 µg/L no manifestaron efectos adversos al fármaco. El asentamiento o fijación de las larvas al envase o entre ellas se incrementa al doble de lo registrado en el control con el aumento de la concentración. La mortalidad es uniforme en los distintos tratamientos es igual o menor al control.

CONCLUSIÓN:

- La concentración de uso del producto comercial AMX® (0,2 mL/m³, equivalente a una dosis de principio activo de 2 µg/L) para el tratamiento de *Caligus* sp. en jaulas de salmones carecería de riesgo letal y de efecto inhibitorio sobre el asentamiento de la larva de *Mytilus chilensis* en exposiciones de 48 horas.

Azametifos, producto puro

El resultado de la exposición de las larvas a una serie de concentraciones de Azametifos se presenta en la Tabla 35.

Tabla 35. Número de larvas premetamórficas de *M. chilensis* muertas y fijadas al envase después de una exposición a Azametifos por 48 horas.

Concentración (µg/L)	Número de larvas muertas y número de larvas fijadas al envase							
	Réplica 1		Réplica 2		Réplica 3		% total larvas	
	Muertas	Fijadas	Muertas	Fijadas	Muertas	Fijadas	Muertas	Fijadas
Control agua (0)		21		20		26		74,4
25		20		16		23		65,5
50		20		19		19		64,4
100		23		18		20		67,7
200		26		25		22		81,1
400		25		25		19		76,6
800		18		20		16		60

La exposición de las larvas premetamórficas de *Mytilus chilensis* a distintas concentraciones del estándar puro de Azametifos no generó diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de larvas fijadas al envase con

respecto al grupo control (anexo VI). Tampoco se observaron larvas muertas en ninguna de las concentraciones ensayadas.

Las aplicaciones en terreno del producto comercial Salmosan se realiza en baños de 30 a 60 minutos a una concentración de 200 µg/L del fármaco, el cual contiene 50 % w/w de Azametifos puro. Por lo tanto, es muy poco probable encontrar en el agua circundante a los lugares de aplicación del fármaco concentraciones tan altas de Azametifos como las ensayadas en este bioensayo.

En el análisis estadístico de los datos del bioensayo se utilizó el test de Dunnett del paquete estadístico Toxstat (anexo VI).

CONCLUSIÓN:

- El ingrediente activo Azametifos a la dosis sugerida por las formulaciones comerciales para el tratamiento del *Caligus* sp. (0,1 mg/L), no manifiesta toxicidad letal ni sobre el asentamiento de la larva premetamórfica de *Mytilus chilensis* en exposición de 48 h.

Azametifos, producto comercial

El resultado de la exposición de las larvas a una serie de concentraciones de Azametifos 50 % (Byelice®) se presenta en la Tabla 36.

Tabla 36. Número de larvas premetamórficas de *M. chilensis* muertas y fijadas al envase después de una exposición a azametifos formulación comercial por 48 horas.

Concentración Azametifos (µg/L)	Número de larvas muertas y de larvas fijadas al envase de 30 expuestas							
	Réplica 1 Muertas - Fijadas		Réplica 2 Muertas – Fijadas		Réplica 3 Muertas – Fijadas		% total larvas Muertas -Fijadas	
Control agua (0)		17		15		20		57,8
62,5		16		16		12		48,8
125		19	1	23		24	1,1	73,3
250	1	27	1	26		27	2,2	88,9
500		26		29	1	27	1,1	91,1
1000	1	22	1	26	3	21	5,5	76,7
2000		25		26	2	23	2,2	82,2

Las larvas premetamórficas de *Mytilus chilensis* expuestas por 48 horas a concentraciones crecientes de Azametifos no manifestaron efectos adversos al fármaco. El asentamiento o fijación de las larvas al envase o entre ellas fue superior bajo el efecto del caligucida que en el control con agua pura. Se observó hasta un 5 % de mortalidad pero no asociado con claridad al incremento de concentración del fármaco.

CONCLUSIÓN:

- La concentración de uso del producto comercial Byelice[®], Azametifos 50 % (200 mg/m³, equivalente a una dosis del principio activo de 100 µg/L) para el tratamiento de *Caligus* sp. en jaulas de salmones carecería de riesgo letal y de efecto inhibitorio sobre el asentamiento de la larva de *Mytilus chilensis* en exposiciones de 48 horas.

4.9.2. Inhibición de la fecundación

Cipermetrina, producto puro

El resultado del bioensayo de fecundación con gametos de *Mytilus chilensis* se presenta en la Tabla 37.

Tabla 37 Número de óvulos fecundados y no fecundados de *M. chilensis* expuestos a cipermetrina pura.

Cipermetrina (µg/L)	Número de óvulos fecundados y no fecundados			
	Réplica 1 Fec.- no Fec.	Réplica 2 Fec.-no Fec.	Réplica 3 Fec.-no Fec.	% óvulos no fecundados
Control agua (0)	79 - 21	77 - 23	78 - 22	22
Control acetona (0,01 mL/L)	68 - 32	72 - 28	72 - 28	27,7
(0,001)	76 - 24	78 - 22	77 - 23	23
(1)	78 - 22	74 - 26	71 - 29	26,7
(100)	70 - 30	76 - 24	78 - 22	25,4

CONCLUSIÓN:

La exposición de los espermios al rango de concentraciones de cipermetrina ensayado a 14 °C no afecta significativamente su capacidad de fecundación comparado con el control agua (Anexo VI). El resultado del control acetona muestra una leve reducción del porcentaje de óvulos fecundados comparado con el control agua. Sin embargo, en la concentración de 100 µg/L de cipermetrina donde la concentración de acetona es la misma que en el control acetona, la inhibición del solvente no se manifiesta. A la concentración de uso en pisciculturas (15 µg/L) no tendría efecto sobre la fecundación de chorito.

Cipermetrina, producto comercial

El resultado del bioensayo de fecundación con gametos de *Mytilus chilensis* se presenta en la Tabla 38.

Tabla 38. Número (en base a 100 registros por réplica) de óvulos fecundados y no fecundados de *M. chilensis* expuestos a cipermetrina.

Concentración producto (µg/L)	Número de óvulos fecundados y no fecundados			
	Réplica 1 Fec. - no Fec..	Réplica 2 Fec. – no Fec.	Réplica 3 Fec.. – no Fec.	% óvulos no fecundados
Control agua (0)	84 - 16	87 - 13	85 – 15	14,7
12,5	72 - 28	86 - 14	78 – 22	21,3
25	80 - 20	79 - 21	66 – 34	25
50	48 - 52	38 - 62	41 - 59	57,6
100	31 - 69	25 - 75	25 – 75	73
200	23 - 77	15 - 85	25 – 75	79
400	20 - 80	10 - 90	18 – 82	84
800	19 - 81	17 - 83	20 - 80	81,3
1600	17 - 83	23 - 77	21 - 79	79,6
3200	11 - 89	10 - 90	9 – 91	90

El cálculo de la CE 50 (Concentración efectiva que inhibe el 50 % de la fecundación) se presenta en el anexo VI.

CONCLUSIÓN:

El producto comercial Betamax® tiene una **CE50 = 82,2 µg/L** con un intervalo de confianza entre 10,7 y 234 µg/L.

Deltametrina, producto puro

El resultado del bioensayo de fecundación con gametos de *Mytilus chilensis* se presenta en la Tabla 39.

Tabla 39. Número de óvulos fecundados y no fecundados de *M. chilensis* expuestos a deltametrina pura.

Cipermetrina (µg/L)	Número de óvulos fecundados y no fecundados			
	Réplica 1 Fec.- no Fec..	Réplica 2 Fec.-no Fec.	Réplica 3 Fec..-no Fec.	% óvulos no Fecundados
Control agua (0)	79 - 21	77 - 23	78 - 22	22
Control acetona (0,01 mL/L)	68 - 32	72 - 28	72 - 28	29,3
(0,001)	77 - 23	72 - 28	71 - 29	26,7
(1)	76 - 24	73 - 27	71 - 29	26,7
(100)	74 - 26	75 - 25	66 - 34	28,4

CONCLUSIÓN:

La exposición de los espermios al rango de concentraciones de deltametrina ensayado a 14°C no afecta significativamente su capacidad de fecundación comparado con el control agua (anexo VI). El control acetona y las tres concentraciones probadas muestran un leve incremento del porcentaje de óvulos no fecundados comparado con el control agua. Solo el control acetona tiene una diferencia estadísticamente significativa con el control agua y podría el solvente estar influenciando el valor registrado en la concentración de 100 µg/L de deltametrina donde la concentración de acetona es la misma que en el control

acetona. Pero la concentración de deltametrina en ese tratamiento es 100 veces superior a la inferior más próxima y no se aprecia una respuesta inhibitoria proporcional. En el rango de concentraciones usado que sobrepasa en 50 veces la dosis de uso en tratamiento de *Caligus* sp (2-3 µg/L) no se evidencia un efecto apreciable sobre la fecundación.

Deltametrina, producto comercial

El resultado del bioensayo de fecundación con gametos de *Mytilus chilensis* se presenta en la Tabla 40.

Tabla 40. Número (en base a 100 registros por réplica) de óvulos fecundados y no fecundados de *M. chilensis* expuestos a ALPHA MAX.

Concentración producto (µg/L)	Número de óvulos fecundados y no fecundados			
	Réplica 1 Fec. - no Fec..	Réplica 2 Fec. – no Fec.	Réplica 3 Fec.. – no Fec.	% óvulos no fecundados
Control agua (0)	81 - 19	78 - 22	80 - 20	20,3
2	86 - 14	79 - 21	76 - 24	19,6
100	73 - 27	80 - 20	73 - 27	24,6
200	82 - 18	79 - 21	75 - 25	21,3
400	85 - 15	75 - 25	81 - 19	19,6
800	76 - 24	81 - 19	74 - 26	23
1600	80 - 20	75 - 25	76 - 24	23

Las concentraciones de ALPHA MAX ensayadas, que incluyen y sobrepasan ampliamente la dosis de uso en el tratamiento de *Caligus* (2 µg/L), no manifiestan toxicidad sobre los espermios expuestos durante 1 hora, dado que no afectan significativamente su capacidad de fecundar los óvulos, comparado con el grupo control agua. En el análisis estadístico de los datos del bioensayo se utilizó el test Dunnett del paquete estadístico Toxstat (anexo VI).

CONCLUSIÓN:

El caligucida en base a deltametrina ALPHA MAX (dosis de 0,2 mL/m³) no afectaría la fecundación de los gametos del chorito *Mytilus chilensis* expuestos en concentraciones incluso muy superiores a la concentración de uso.

Azametifos, producto comercial

El resultado del bioensayo de fecundación con gametos de *Mytilus chilensis* se presenta en la Tabla 41.

Tabla 41. Número (en base a 100 registros por réplica) de óvulos fecundados y no fecundados de *M. chilensis* a consecuencia de la exposición de espermios a Azametifos.

Concentración producto (µg/L)	Número de óvulos fecundados y no fecundados			
	Réplica 1 Fec. - no Fec..	Réplica 2 Fec. – no Fec.	Réplica 3 Fec.. – no Fec.	% óvulos no fecundados
Control agua (0)	89 - 11	80 - 20	79 – 21	17,3
50	79 - 21	75 - 25	82 - 18	21,3
200	76 - 24	83 - 17	80 – 20	20,3
800	79 - 21	83 - 27	73 – 27	25
3200	82 - 18	75 - 25	79 – 21	21,3
6400	76 - 24	77 - 23	81 - 19	22

El fármaco Azametifos presentó un leve efecto sobre los espermios al comparar con el control. Pero no se manifiesta una respuesta en función de la concentración. La proporción de óvulos no fecundados en todo el rango de concentración evaluado no se diferencia estadísticamente del recuento en el control (anexo VI).

CONCLUSIÓN:

El caligucida Byelice® Azametifos 50 % con dosis de 200 mg/m³ en agua no afectaría la capacidad de fecundación de los espermios del chorito (*Mytilus chilensis*), incluso cuando la exposición es 60 veces más concentrada que en la dosis de aplicación en salmonicultura.

4.9.3. Inhibición en el desarrollo larval

Cipermetrina, producto puro

El resultado del bioensayo de desarrollo de larva D de *Mytilus chilensis* con exposición a cipermetrina pura a partir del embrión de dos células se presenta en la Tabla 42.

Tabla 42. Número de larvas de *M. chilensis* en estado D normal y en estados de desarrollo previos o anormales (trocófora, deformes) después de una exposición de 6 días a cipermetrina pura.

Cipermetrina (µg/L)	Número de larvas D normales (Norm) y anormales (Anorm)			
	Réplica 1 Norm-Anorm	Réplica 2 Norm-Anorm	Réplica 3 Norm-Anorm	Promedio Norm-Anorm
Control agua (0)	71 - 29	76 - 24	70 - 30	72,3 - 27,6
Control acetona (0,01 mL/L)	44 - 56	32 - 68	38 - 62	38 - 62
(0,001)	75 - 25	75 - 25	76 - 24	75,3 - 24,7
(0,01)	69 - 31	68 - 32	68 - 32	68,3 - 31,7
(0,1)	72 - 28	63 - 37	68 - 32	67,6 - 32,4
(1)	69 - 31	70 - 30	69 - 31	69,3 - 30,7
(10)	58 - 32	69 - 31	64 - 36	63,6 - 36,4
(100)	63 - 37	52 - 48	58 - 42	57,6 - 42,4

CONCLUSIÓN:

La exposición del embrión a cipermetrina durante su desarrollo hasta la larva D no muestra diferencias significativas en el número de embriones anormales entre el control agua y el rango de concentración desde 0,001 a 10 µg/L de este compuesto (Anexo VI). El control acetona con 0,01 mL/L del solvente registró un 62 % de embriones anormales. Tanto el control acetona como la concentración más alta de cipermetrina ensayada (100 µg/L) son estadísticamente diferentes al control agua por una mayor proporción de embriones anormales. Es posible que el efecto

inhibidor del desarrollo larval en esta última concentración de cipermetrina sea consecuencia del acetona cuyo volumen es el mismo usado en el control acetona.

Cipermetrina, producto comercial

El resultado del bioensayo de desarrollo larvario hasta la larva D de *Mytilus chilensis* se presenta en la Tabla 43.

Tabla 43. Número de individuos en estado de desarrollo normal (larva D) y anormal (larva deforme, trocofora o irreconocible) de *M. chilensis* expuestos a Betamax®.

Betamax (µg/L)	N° de larvas D normales y anormales			
	Réplica 1 Normal - Anormal	Réplica 2 Normal - Anormal	Réplica 3 Normal - Anormal	% larvas anormales
Control agua (0)	80 - 20	74 - 26	83 - 17	21
(100)	78 - 22	77 - 23	81 - 19	21,3
(200)	75 - 25	69 - 31	73 - 27	27,6
(400)	58 - 42	60 - 40	62 - 38	40
(800)	54 - 46	59 - 41	55 - 45	44
(1.600)	47 - 53	56 - 44	55 - 45	47,3

CONCLUSIÓN:

La exposición del embrión de chorito durante su desarrollo hasta la larva D a un gradiente creciente de concentraciones de Betamax® ejerce un incremento gradual de estados de desarrollo anormales, pero de ningún modo proporcionales al incremento de las concentraciones ensayado. A partir de 400 µg/L se aprecia una diferencia estadísticamente significativa respecto a los estados anormales del control (Anexo VI). A 1.600 µg/L las larvas anormales no alcanzan al 50%. La concentración de uso de Betamax® en pisciculturas (0,3 mL/m³) no alteraría el desarrollo larvario hasta la larva D del chorito.

Deltametrina, producto puro

El resultado del bioensayo de desarrollo de larva D de *Mytilus chilensis* con exposición a partir del embrión de dos células se presenta en la Tabla 44.

Tabla 44. Número de larvas de *M. chilensis* en estado D normal y en estados de desarrollo previos o anormales (trocófora, deformes) después de una exposición de 6 días a deltametrina pura.

Deltametrina (µg/L)	Número de larvas D normales (Norm) y anormales (Anorm)			
	Réplica 1 Norm-Anorm	Réplica 2 Norm-Anorm	Réplica 3 Norm-Anorm	Promedio Norm-Anorm
Control agua (0)	71 - 29	76 - 24	70 - 30	72,3 - 27,6
Control acetona	44 - 56	32 - 68	38 - 62	38 - 62
(0,001)	68 - 32	61 - 39	64 - 36	64,3 - 35,7
(0,01)	66 - 34	79 - 21	73 - 27	72,6 - 27,4
(0,1)	72 - 28	75 - 25	73 - 27	73,3 - 26,7
(1)	72 - 28	69 - 31	70 - 30	70 - 30
(10)	70 - 30	70 - 30	70 - 30	70 - 30
(100)	66 - 34	70 - 30	68 - 32	68 - 32

CONCLUSIÓN:

La exposición del embrión de chorito al estándar de deltametrina durante su desarrollo hasta la larva D muestra que en el rango de concentraciones evaluado entre 0,001 y 100 µg/L, el número de estados de desarrollo anormales no difiere estadísticamente de lo registrado en el control agua (Anexo VI). El control acetona con la misma concentración del solvente que en el tratamiento de 100 µg/L de deltametrina, sí tuvo efecto con un promedio de 62 individuos anormales de 100 contabilizados. Sin embargo en el tratamiento de 100 µg/L de deltametrina con la misma cantidad de acetona que el control acetona, no evidencia efectos significativos respecto al control agua. Deltametrina, por lo tanto, no tendría efectos sobre el desarrollo del embrión hasta larva D a la concentración sugerida para control de Caligus.

Deltametrina, producto comercial

El resultado del bioensayo de desarrollo en larva D de *Mytilus chilensis* con exposición a deltametrina pura a partir del embrión de dos células se muestran en Tabla 45.

Tabla 45. Número de larvas de *M. chilensis* en estado D normal y en estados de desarrollo previos o anormales (trocófora, deformes) después de una exposición de 6 días a deltametrina.

Deltametrina (µg/L)	Número de larvas D normales (Norm) y anormales (Anorm)			
	Réplica 1 Norm-Anorm	Réplica 2 Norm-Anorm	Réplica 3 Norm-Anorm	Promedio Norm-Anorm
Control agua (0)	80 - 20	74 - 26	83 - 17	79 - 21
(100)	65 - 35	66 - 34	76 - 24	69 - 31
(200)	66 - 34	66 - 34	76 - 24	69,3 - 30,7
(400)	66 - 34	67 - 33	76 - 24	69,7 - 30,3
(800)	0 - 100	0 - 100	0 - 100	0 - 100
(1.600)	0 - 100	0 - 100	0 - 100	0 - 100

CONCLUSIÓN:

La exposición del embrión de chorito a AMX® durante su desarrollo hasta la larva D muestra que en las concentraciones más bajas del rango evaluado, entre 100 y 400 µg/L, el número de estados anormales es aproximadamente 30 individuos de 100 contados, esto es 10 individuos más que en el control, pero la diferencia no es estadísticamente significativa (Anexo VI). Sobre 800 µg/L ningún embrión alcanza el estado de larva D.

Azametifos, producto comercial

El resultado del bioensayo de desarrollo larval de *Mytilus chilensis* expuesto a Azametifos se presenta en Tabla 46.

Tabla 46. Número de larvas D normales (Normal) y estados de desarrollo anormales (Anorm) como larvas D deformes, trocóforas y embriones amorfos e irreconocibles, en un recuento de 100 estados de desarrollo de *M. chilensis* expuestos durante 6 días a Azametifos.

Concentración Azametifos (µg/L)	Número de larvas D normales y anormales			
	Réplica 1 Normales-Anorm.	Réplica 2 Normales-Anorm.	Réplica 3 Normales-Anorm.	% larvas Anormales
Control agua (0)	75 - 25	68 - 32	79 - 21	26
50	74 - 26	73 - 27	69 - 31	28
100	72 - 28	80 - 20	70 - 30	26
200	69 - 31	81 - 19	71 - 29	26,3
400	70 - 30	34 - 36	69 - 31	32,3
800	65 - 35	59 - 41	72 - 28	34,6
1600	59 - 41	63 - 37	55 - 45	41
3200	53 - 47	49 - 51	51 - 49	49
6400	10 - 90	5 - 95	12 - 88	91

Con el incremento de la concentración de Azametifos se observó un gradual aumento en el porcentaje de estados de desarrollo anormales pero la diferencia con el control no es estadísticamente significativa hasta 800 µg/L (anexo VI). La mitad de los embriones expuestos al producto fue afectada en su desarrollo a larva D con 3200 µg/L. El 91 % de los embriones no logró llegar a la larva D cuando el fármaco alcanzó los 6400 µg/L.

CONCLUSIÓN:

- El caligucida Azametifos 50% afecta el desarrollo larvario del chorito *Mytilus chilensis*, a partir de una exposición de 1600 µg/L.
- LOEC= 1600 µg/L; NOEC= 800 µg/L. La dosis de aplicación en salmonicultura, 100 µg/L, es muy inferior al NOEC reportado.

4.9.4. Tasa de aclaramiento e ingestión de larvas véliger de *M. chilensis*

Se realizaron seis experimentos de laboratorio para evaluar el efecto de los compuesto puro y comercial de cipermetrina, azametifos y deltametrina sobre las tasas de aclaramiento e ingestión de larvas veliger de *Mytilus chilensis*. Un set de experimentos se realizó utilizando como alimento, a la haptófita *Isochrysis galbana*, y otro set de experimentos utilizando comunidades naturales de fitoplancton del área de Chiquihue, Puerto Montt (Tabla 47). Las concentraciones utilizadas en todos los experimentos realizados, fueron:

C1: 1,56 $\mu\text{g L}^{-1}$; **C2:** 3,12 $\mu\text{g L}^{-1}$; **C3:** 6,25 $\mu\text{g L}^{-1}$; **C4:** 12,5 $\mu\text{g L}^{-1}$; **C5:** 25 $\mu\text{g L}^{-1}$; **C6:** 50 $\mu\text{g L}^{-1}$

Junto con lo anterior se incorporó un tratamiento blanco, el cual consistió en la misma oferta de alimento y número de larvas, pero sin el piretroide respectivo, utilizando sólo el solvente utilizado para disolver los piretroides (acetona).

Tabla 47. Experimentos realizados como parte de este estudio.

Compuesto	<i>I. galbana</i>	Comunidad natural
Cipermetrina <i>puro</i>	✓	✓
Cipermetrina <i>comercial</i>	✓	✓
Azametifos <i>puro</i>	✓	✓
Azametifos <i>comercial</i>	✓	✓
Deltametrina <i>puro</i>	✓	✓
Deltametrina <i>comercial</i>	✓	✓

Los resultados que se presentan corresponden a los experimentos realizados con los compuestos cipermetrina, azametifos y deltametrina en su formato puro y comercial, utilizando oferta de alimento artificial (*Isochrysis galbana*) y natural.

En la Figura 56A se presenta la tasa de aclaramiento e ingestión de larvas véliger de *M. chilensis* sobre la microalga *I. galbana*, a cinco concentraciones del compuesto cipermetrina puro. Los resultados evidencian una brusca disminución (F1, 10=9.83, p=0.01) en las tasas de aclaramiento entre el blanco y la primera concentración de 1.56 $\mu\text{g L}^{-1}$ (0,6 y 0,4 mL ind⁻¹ d⁻¹, respectivamente), disminuyendo paulatinamente hasta alcanzar valores de "0" (límite de detección) a concentraciones de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 56A). En forma similar, la tasa de ingestión

disminuyen entre el blanco ($5,0 \mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$) y la primera concentración de $1,56 \mu\text{g L}^{-1}$ ($3,2 \mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$) hasta alcanzar valores cercanos al límite de detección a mayores concentraciones de Cipermetrina puro (Figura 56A). Esta disminución va acompañada además de un cambio en la selección de partículas, de algas verdes (i.e. nanoflagelados) a principalmente cianobacterias sobre concentraciones de Cipermetrina puro mayores a $3,12 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 56B).

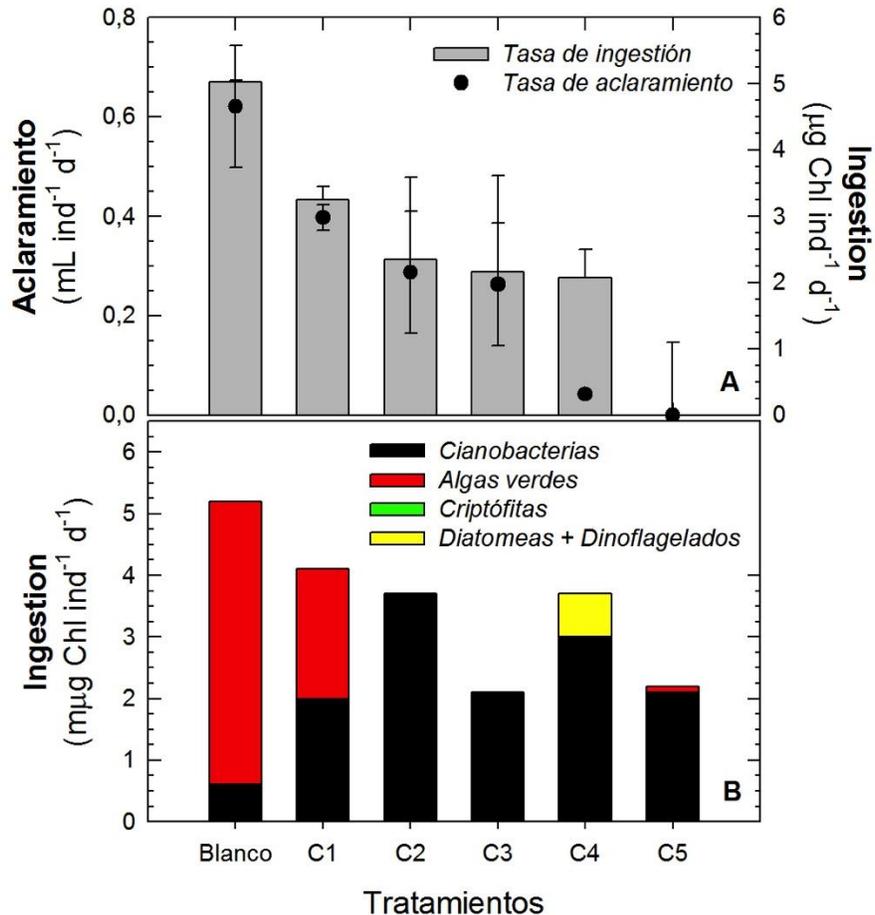


Figura 56. A) Tasa de aclaramiento e ingestión de larvas véliger de *M. chilensis* a cinco concentraciones de cipermetrina (producto puro), utilizando como alimento la haptófito *Isochrysis galbana* ($\sim 10 \mu\text{g Chl L}^{-1}$). B) Tasas de ingestión sobre cuatro grupos fitoplanctónicos utilizando la oferta natural de alimento.

Bajas tasas de aclaramiento ($0,2$ a $0,6 \text{ mL ind}^{-1} \text{d}^{-1}$) en larvas véliger de *M. chilensis* fueron estimadas a bajas concentraciones de cipermetrina comercial, observando tasas de aclaramiento de $1,3$ a $1,5 \text{ mL ind}^{-1} \text{d}^{-1}$ a concentraciones mayores a $6,25 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 57A). Para las tasas de ingestión se observó una similar variación con bajas tasas a bajas concentraciones del piretroide comercial ($0,4$ a $1,4 \mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$) y un incremento ($2,9$ a $3,3 \mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$) también a concentraciones mayores a $6,25 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 57A). Además se observaron diferencias entre el origen de la

cipermetrina (compuesto puro versus comercial) sobre las tasa de aclaramiento, con mayor efecto (menor tasa de aclaramiento) al utilizar cipermetrina pura (Figura 57A,

Tabla 48). En forma diferente, estas diferencias no fueron observadas al estimar las tasas de ingestión (Tabla 49). La selección de partículas ingeridas por las larvas fue siempre mayor sobre cianobacterias, aumentando desde el blanco hacia concentraciones mayores de cipermetrina comercial, observándose una dieta exclusiva sobre cianobacterias a 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ del piretroide (Figura 57B).

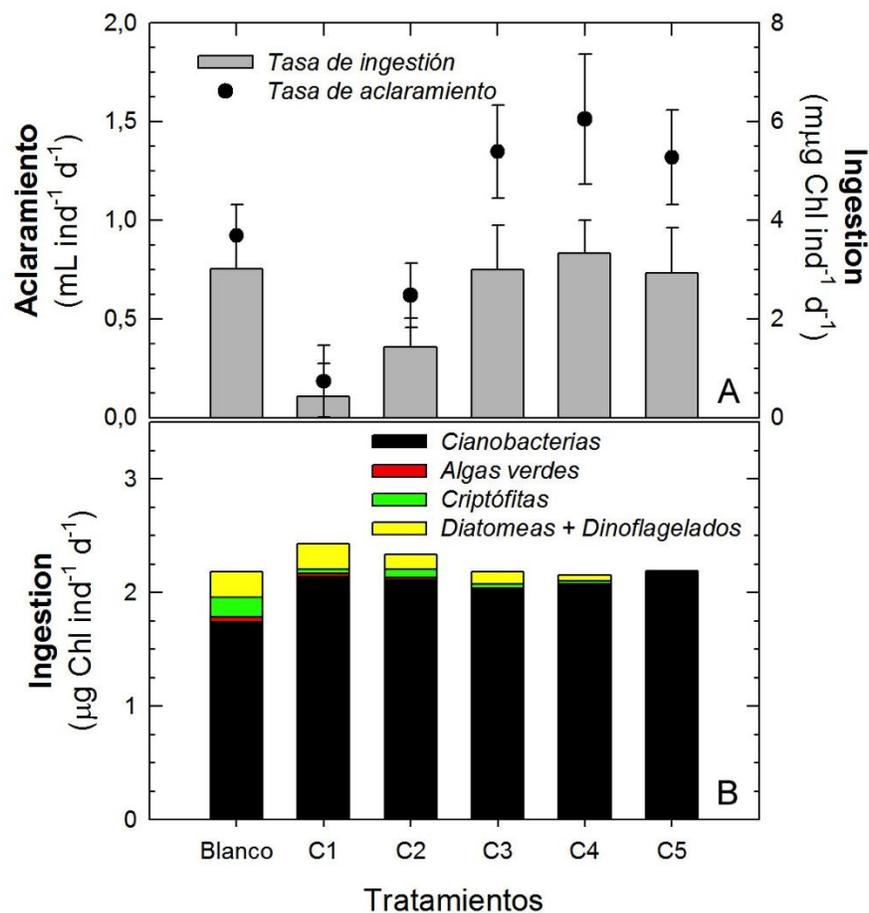


Figura 57. A) Tasa de aclaramiento e ingestión de larvas véliger de *M. chilensis* a cinco concentraciones de cipermetrina (producto comercial), utilizando como alimento la haptófito *Isochrysis galbana* (~10 $\mu\text{g Chl L}^{-1}$). B) Tasas de ingestión sobre cuatro grupos fitoplanctónicos utilizando la oferta natural de alimento.

Tabla 48. ANOVA 2-vías para evaluar el efecto del origen del piretroide (comercial o puro) y la concentración de éste para (A) cipermetrina, (B) azametifos, y (C) deltametrina, sobre las tasas de aclaramiento de larvas véliger de *M. chilensis*.

	Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	p-value
(A)	Origen	1	1.537	1.537	6.832	0.048
	Concentración	5	0.439	0.088	0.391	0.837
	Origen+concentración	5	1.125	0.225		
(B)	Origen	1	27.710	27.710	236.454	> 0.001
	Concentración	6	1.839	0.306	2.615	0.186
	Origen+concentración	4	0.469	0.117		
(C)	Origen	1	0.392	0.392	1.284	0.308
	Concentración	6	1.823	0.304	0.995	0.513
	Origen+concentración	5	1.526	0.305		

Tabla 49. ANOVA 2-vías para evaluar el efecto del origen del piretroide (comercial o puro) y la concentración de éste para (A) cipermetrina, (B) azametifos, y (C) deltametrina, sobre las tasas de ingestión de larvas véliger de *M. chilensis*.

	Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	p-value
(A)	Origen	1	0.046	0.046	0.019	0.895
	Concentración	5	8.403	1.681	0.712	0.641
	Origen+concentración	5	11.798	2.360		
(B)	Origen	1	3407	3407	101.306	>0.001
	Concentración	6	122	20	0.603	0.724
	Origen+concentración	4	135	34		
(C)	Origen	1	38.59	38.59	5.528	0.066
	Concentración	6	41.48	6.91	0.990	0.515
	Origen+concentración	5	34.91	6.98		

Las tasas de aclaramiento de larvas véliger de *M. chilensis* sobre *I. galbana*, a cinco concentraciones de azametifos puro también presentan una marcada disminución ($F_{1,10}=120.1$, $p<0.001$) entre el blanco y la primera concentración de $1,56 \mu\text{g L}^{-1}$ ($1,0$ y $0,7 \text{ mL ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectivamente), disminuyendo paulatinamente hasta alcanzar valores de "0" a concentraciones de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 58A). La tasa de ingestión también disminuye en forma drástica ($F_{1,10}=132.9$, $p<0.001$) con valores de $8,5 \mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en el blanco y valores inferiores a $0,05 \mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$ a todas las concentraciones de azametifos puro ensayadas (Figura 58A). La dieta ingerida por las larvas véliger de *M. chilensis* está compuesta solo por algas verdes y criptófitas en el blanco y las concentraciones menores a $3,12 \mu\text{g L}^{-1}$ de azametifos puro, no detectando la selección e ingestión de algas verdes a concentraciones mayores del piretroide y observando una dieta casi exclusiva sobre criptófitas a mayores concentraciones de azametifos puro (Figura 58B).

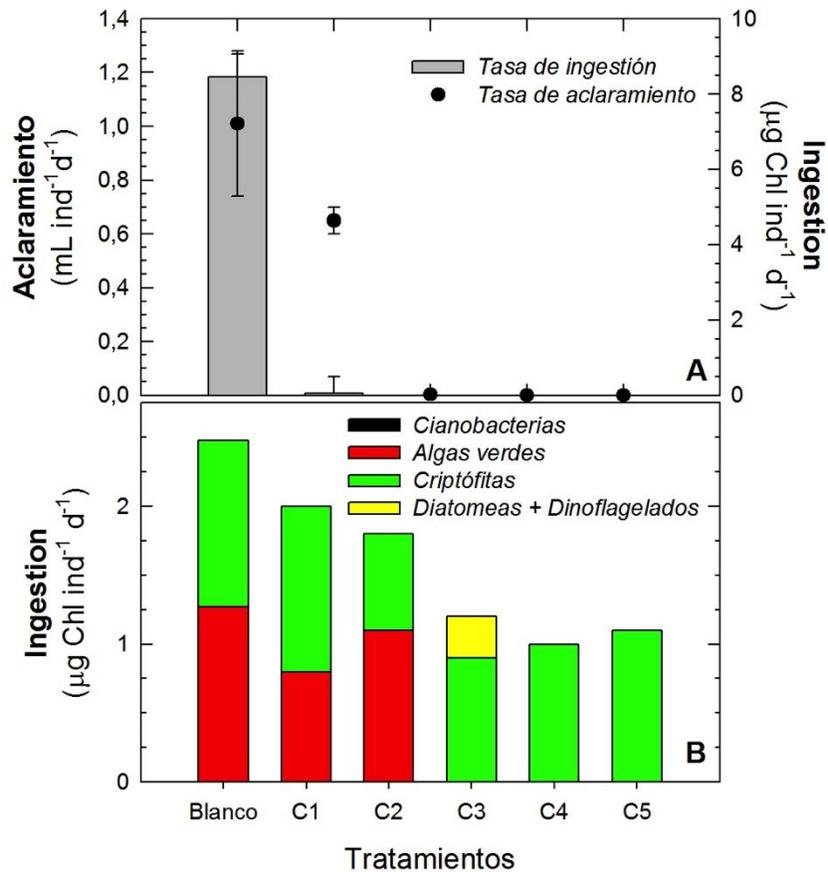


Figura 58. A) Tasa de aclaramiento e ingestión de larvas veliger de *M. chilensis* a cinco concentraciones de azametifos (producto puro), utilizando como alimento la haptófito *Isochrysis galbana* (~10 µg Chl L⁻¹). B) Tasas de ingestión sobre cuatro grupos fitoplanctónicos utilizando la oferta natural de alimento.

En forma diferente, la tasa de aclaramiento de larvas véliger de *M. chilensis* sobre *I. galbana* no presentó cambios bajo las diferentes concentraciones ensayadas de azametifos comercial, ni tampoco presentó diferencias en comparación con el blanco, observando tasas desde 3,1 a 4,1 mL ind⁻¹ d⁻¹ (Figura 59A). De forma similar tampoco se detectaron diferencias en la tasas de ingestión de larvas sobre *I. galbana*, registrando altas tasas de ingestión que variaron desde 30,8 a 45,2 µg Chl ind⁻¹ d⁻¹ (Figura 59A). Si se observaron diferencias entre el origen del piretroide (compuesto puro versus comercial) sobre las tasa de aclaramiento e ingestión (

Tabla 48 y Tabla 49) con mayor efecto (menores tasa de aclaramiento e ingestión) al utilizar azametifos puro. La dieta ingerida por las larvas fue de mayor preferencia por algas verdes (3,3 a 4,2 $\mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$), seguida por la ingestión de diatomeas y dinoflagelados (2,8 a 3,6 $\mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$), cianobacterias (0,5 a 0,7 $\mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$), y criptófitas (0,2 a 0,4 $\mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$), sin detectar cambios en la selección de partículas con el aumento de la concentración de azametifos comercial (Figura 59B).

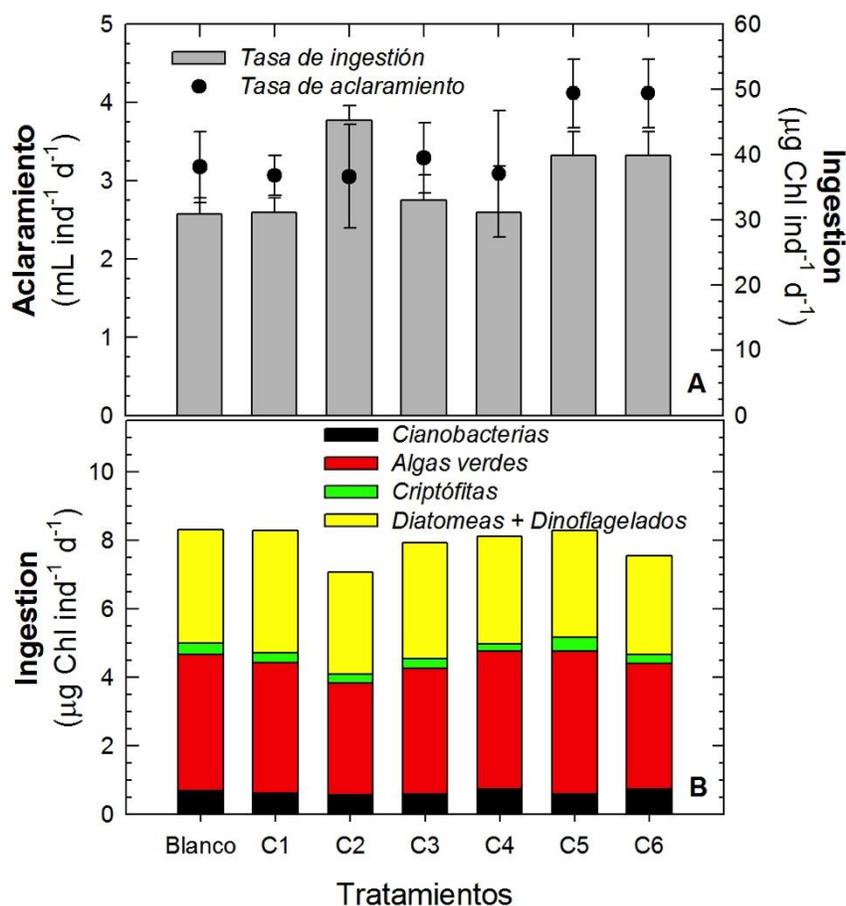


Figura 59. A) Tasa de aclaramiento e ingestión de larvas veliger de *M. chilensis* a seis concentraciones de azametifos (producto comercial), utilizando como alimento la haptófito *Isochrysis galbana* ($\sim 10 \mu\text{g Chl L}^{-1}$). B) Tasas de ingestión sobre cuatro grupos fitoplanctónicos utilizando la oferta natural de alimento.

La utilización de deltametrina pura no disminuye las tasas de aclaramiento ni de ingestión de larvas véliger de *M. chilensis* sobre *I. galbana* (Figura 60A). Las tasas de aclaramiento e ingestión fueron cercanas al límite de detección en el blanco y a concentraciones de $1,56 \mu\text{g L}^{-1}$ de deltametrina pura, presentando una alta variabilidad a concentraciones mayores a $3,12 \mu\text{g L}^{-1}$ del piretroide (Figura 60A). Solo las tasas de ingestión fueron en este caso significativamente mayores al

aumentar la concentración de deltametrina sobre $6,25 \mu\text{g L}^{-1}$ ($F_{1, 11}=5.56$, $p=0.04$). A pesar del incremento en las tasas de aclaramiento e ingestión sobre *I. galbana*, la dieta sobre la oferta natural de alimento no presenta grandes cambios al aumentar la concentración de deltametrina pura (Figura 60B). Tasas de ingestión similares se observaron para algas verdes, diatomeas y dinoflagelados (rango total: 2,4 a $3,0 \mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$), seguido por la preferencia sobre cianobacterias ($1,0$ a $1,3 \mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$) y criptófitas ($0,02$ a $0,2 \mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$).

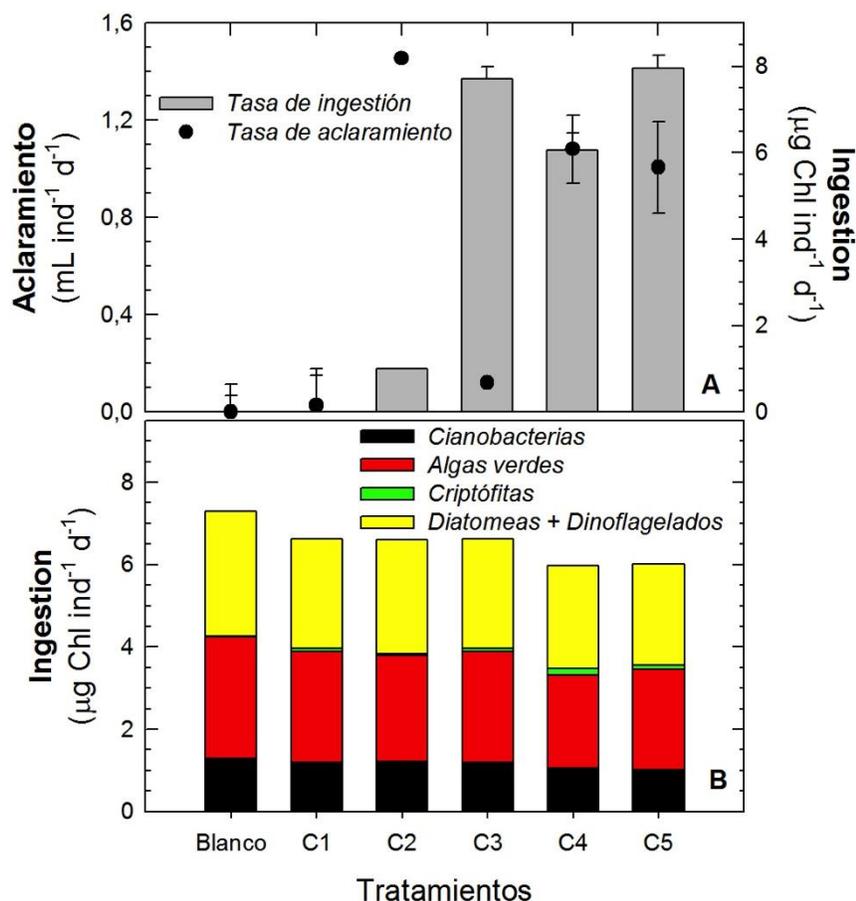


Figura 60. A) Tasa de aclaramiento e ingestión de larvas veliger de *M. chilensis* a cinco concentraciones de deltametrina (producto puro), utilizando como alimento la haptófito *Isochrysis galbana* ($\sim 10 \mu\text{g Chl L}^{-1}$). B) Tasas de ingestión sobre cuatro grupos fitoplanctónicos utilizando la oferta natural de alimento.

Al utilizar deltametrina comercial se registraron bajas tasas de aclaramiento en el blanco y concentración menor del piretroide. A concentraciones intermedias de deltametrina comercial ($3,12$ y $6,25 \mu\text{g L}^{-1}$) las tasas de aclaramiento fueron de $0,8$ y $1,1 \text{ mL ind}^{-1} \text{d}^{-1}$, respectivamente, para luego registrar valores mínimos a concentraciones mayores (Figura 61A). La misma tendencia se observó en las tasas de ingestión de las larvas con tasas de ingestión de $0,9$ y $1,4 \mu\text{g Chl ind}^{-1} \text{d}^{-1}$ a

concentraciones de 3,12 y 6,25 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, para disminuir a concentraciones mayores de deltametrina comercial (Figura 61A). Además no se observaron diferencias entre el origen de la deltametrina (producto comercial y puro) sobre las tasas de aclaramiento e ingestión (

Tabla 48 y Tabla 49). La dieta sobre la oferta natural de alimento presentó una disminución en su tasa de ingestión a concentraciones superiores a 12,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de deltametrina comercial (Figura 61B). Sin embargo, no se observa un marcado cambio en la dieta de las larvas de *M. chilensis*, prefiriendo principalmente algas verdes, seguido por diatomeas y dinoflagelados (Figura 61B). Además, a concentraciones superiores a 12,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de deltametrina comercial, se observó un aumento en la preferencia por cianobacterias (Figura 61B).

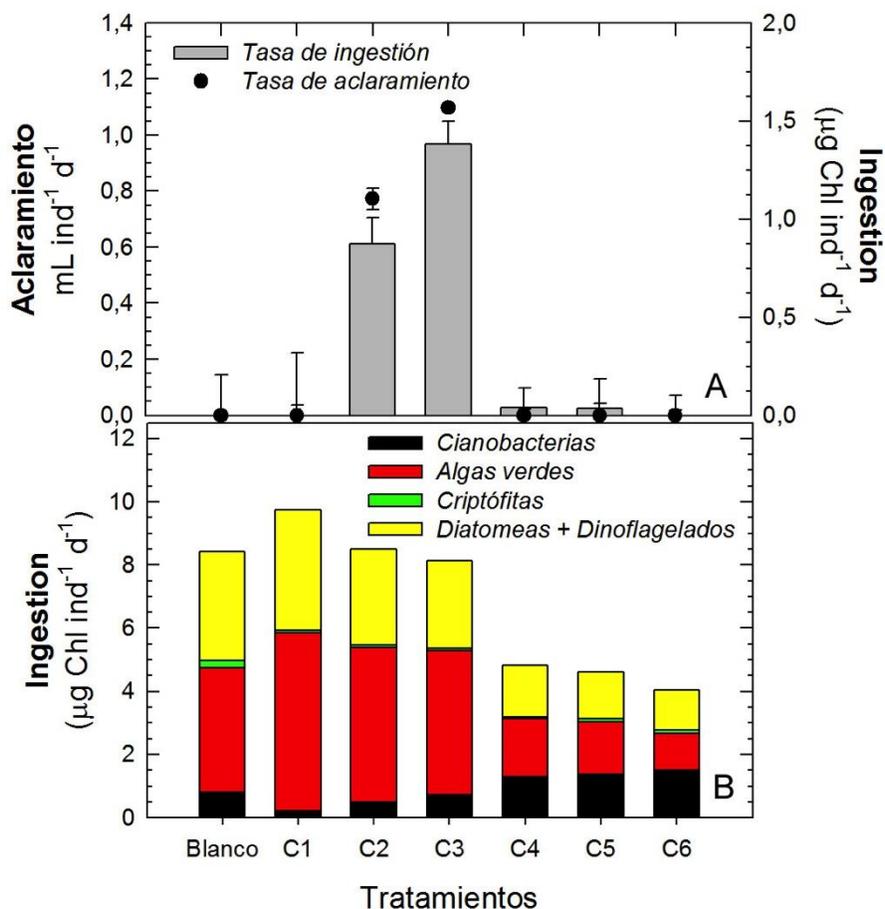


Figura 61. A) Tasa de aclaramiento e ingestión de larvas veliger de *M. chilensis* a seis concentraciones de deltametrina (producto comercial), utilizando como alimento la haptófito *Isochrysis galbana* (~10 $\mu\text{g Chl L}^{-1}$). B) Tasas de ingestión sobre cuatro grupos fitoplanctónicos utilizando la oferta natural de alimento.

5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Muchas de las propiedades físico-químicas de un compuesto orgánico, además de las condiciones ambientales, pueden definir el comportamiento y destino ambiental de un químico. Para el caso de los piretroides cipermetrina y deltametrina se ha observado que la baja persistencia en agua puede deberse a procesos fotoquímicos y oxidativos, así como también, a la baja alcalinidad en el medio (Schleier & Peterson, 2011). No obstante, pese a su baja persistencia, se ha podido apreciar que estos piretroides sintéticos pueden actuar de manera severa y efectiva (en bajas dosis) sobre diversos organismos acuáticos, principalmente crustáceos marinos (ej. Medina et al., 2004, Haya et al., 2005). Similarmente, estudios han señalado efectos deletéreos del organofosforado azametifos, el cual ha generado respuestas sobre individuos juveniles y adultos de crustáceos (Burrige et al., 1999; 2014). Azametifos se caracteriza por ser altamente soluble en agua, por lo cual, su capacidad de transporte en el medio esta estrechamente relacionada a la hidrodinámica del área en estudio. No obstante, se ha demostrado que este organofosforado puede ser rápidamente degradado en agua (vida media 8-9 días), además de presentar una baja capacidad de bioacumulacion en tejido de peces (EMEA, 2009; 2012).

Durante los periodos primavera-verano (2014) y otoño-invierno (2015) se realizaron campañas de monitoreo en un total de 6 centros de cultivo de salmón localizados en la X región de Los Lagos, principalmente en Isla de Chiloé. En ellos, nuestros resultados muestran que para las distintas experiencias de los derivadores de corriente lagrangiana instalados en la zona de los canales de la Isla de Chiloé y Calbuco (Centro Paso Quenu), mostraron desplazamientos influenciados por las fluctuaciones mareales y vientos locales. En general, la zona del mar interior de Chiloé se caracterizó por presentar corrientes que son principalmente manejadas por la marea semidiurna (Letelier et al., 2011), donde la onda de marea ingresa por la boca del Guafo y se propaga hacia el norte por el Golfo de Corcovado, extendiéndose por canales y senos que se encuentran en la zona norte del mar interior de Chiloé. Por otro lado, para el caso de baja frecuencia, es decir, periodos mayores a 40 hrs, el esfuerzo local del viento tuvo una influencia directa en las corrientes superficiales. Las mediciones de corrientes lagrangianas obtenidas durante el periodo primavera-verano se caracterizó por presentar una dirección que está influenciada por la topografía de la costa, siguiendo una trayectoria paralela a esta. Para el caso de las magnitudes, gran parte de los valores obtenidos fueron menores a 10 cm/s, con algunas excepciones, donde no superaron los 20 cm/s. Los valores mencionados anteriormente son menores a registros de corrientes eulerianas obtenidas en otros sectores del mar interior (Letelier et al., 2011). En general, el principal forzante en la zona de interés fue la marea, pero en la superficie el viento local podría estar incrementando la rapidez en comparación a lo observado en los derivadores de fondo. Estas características se pudieron apreciar de mejor forma en los sectores de Quinchao y Chillidque, donde las mediciones realizadas

durante periodo de llenante de la marea y el viento provocaron un flujo hacia el NW y SW. Mientras que Lille 2 el viento obtenido para ese día no tuvo una señal clara que estaría influenciando directamente a la corriente para el periodo de interés. Como comentario general, se debe dejar en claro que el tiempo de medición de corrientes lagrangianas realizado en los tres sectores fue muy acotado para establecer un patrón de circulación, más aún sólo se realizaron mediciones durante periodo de marea llenante, por lo tanto se debe considerar como una situación sólo para el periodo de medición. De la misma manera que la primera campaña, durante el periodo de otoño-invierno las mediciones de corrientes lagrangiana se caracterizaron por presentar una dirección que estaría siendo influenciada por la topografía de la costa, siguiendo en su mayoría una trayectoria paralela a esta. Para el caso de las magnitudes, gran parte de los valores obtenidos fluctuaron entre los 1,8 a 21 cm/s. Los valores mencionados anteriormente son menores a registros de corrientes eulerianas obtenidas en otros sectores del mar interior (Letelier et al., 2011). En general, el principal forzante en la zona de interés fue la marea, pero en la superficie el viento local podría estar incrementando la rapidez en comparación a lo observado en los derivadores de fondo. Estas características se pudieron apreciar de mejor forma en los sectores de Punta Lucu y Paso Quenu, donde las mediciones realizadas durante el periodo de estudio, resultaron con las mayores velocidades (promedio superficial 14 cm/s). Mientras que el Puerto Haro presento velocidades de desplazamiento promedio del orden de 3,55 cm/s.

En cuanto concierne a la biota marina se realizó un análisis temporal, espacial y abundancia por grupo de las especies identificadas en cada campaña. Para fitoplancton marino se observaron diferencias significativas durante los tiempos de muestreo, pre y post tratamiento en las campañas primavera-verano y otoño-invierno. Sin embargo, no existieron diferencias significativas entre las distancias consideradas para la toma de muestras (0, 100 y 500 m). En cuanto al número de especies fitoplanctónicas identificadas en el área de estudio se pudo observar una dominancia del grupo de diatomeas (concéntricas y penadas) y dinoflagelados, lo que concuerda con lo propuesto por Avaria (2008), el cual señala que es muy común observar estos grupos en canales de interior y fiordos en la zona sur-austral de Chile, mezclándose a su vez especies marinas con especies de aguas continentales. En cuanto al bentos, en general se observó que durante el periodo primavera-verano y otoño-invierno, no hubo diferencias significativas entre los tiempos de muestreo (pre y postratamiento) ni distancias donde fueron colectadas las muestras (0, 100 y 500 m). En cuanto a la composición de especies bentónicas identificadas durante las distintas campañas se pudo observar que el grupo de poliquetos fue el más dominante en estas zonas (Rozbaczylo et al., 2014), identificándose un total de 19 especies.

Los índices de diversidad de Shannon y biodiversidad de Margalef permitieron determinar la existencia de una alta diversidad biológica de fitoplancton en los sectores de muestreo, pues todos los índices mostraron valores por sobre los 4 Bits. Esto indica que existe una excepcional cantidad de especies en el ecosistema. Es importante destacar, no obstante, que la utilización de estos índices aporta una

visión parcial, pues no dan información acerca de la distribución espacial de las especies, aunque sí intentan incluir la riqueza y la equitabilidad (Zar, 1996).

La cuantificación para Cipermetrina en ambas campañas, en lo particular en la matriz sedimento, entrega concentraciones promedio de 0,39 ng/g principalmente durante el periodo de pre-tratamiento, detectándose principalmente en la orientación C, D y 0 m desde la jaula tratada. Esto puede dejar en evidencia las características hidrodinámicas de la zona en estudio, hasta que el producto químico liberado alcance sedimento del fondo. Posteriormente, durante el periodo de postratamiento los niveles detectados fueron inferiores al periodo pre tratamiento, detectándose concentraciones que no superaron los 0,02 ng/g (eg. segunda campaña).

Las concentraciones encontradas para Deltametrina, si bien no muestran una tendencia directa a alguna orientación en particular (Primera campaña: 0m, lados A y B; Segunda campaña: 0m, lados A, B y D), coincide con lo que sucede para Cipermetrina, es decir, el antiparasitario traspasa los distintos estratos de la columna de agua, hasta depositarse en el fondo marino, pero deltametrina mostró una mayor estabilidad en el ambiente, presentándose para la primera campaña en mayores concentraciones en el periodo de pre-tratamiento, mientras que para la segunda campaña el comportamiento fue diferente.

Debido a a los bajos niveles de antiparasitarios en agua, dispositivos de muestreo pasivo fueron de mucha utilidad para la determinación de concentraciones trazas de estos compuestos en la matriz acuosa, integrando espacio y tiempo durante los distintos periodos de muestreo en centros de cultivos. El muestreador EVA logró detectar concentraciones de cipermetrina y deltametrina en el orden de 33,3 y 11,7 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Estas concentraciones estuvieron directamente relacionadas al movimiento de las corrientes dominantes, siendo absorbidos por el polímero EVA, el cual fue desplegado en las distintas caras del módulo de jaulas en tratamiento.

En general, ensayos con larvas de *Mytilus chilensis* no presentaron efectos en la mortalidad y fijación de larvas premetamórficas, ni inhibición en la fecundación e inhibición en el desarrollo larval, determinándose efectos por sobre las dosis utilizadas para cada antiparasitario en el ambiente marino. No obstante, efectos fisiológicos en larvas véliger de *M. chilensis* mostraron marcadas diferencias entre los piretroides utilizados (cipermetrina, azametifos y deltametrina), donde su origen (puro o comercial) marcó diferencias en las tasas de aclaramiento e ingestión, principalmente al observar la utilización de cipermetrina y azametifos. Observando los ensayos donde se utilizó como alimento la haptófita *Isochrysis galbana*, la utilización de cipermetrina pura y azametifos puro causó una disminución en las tasas de aclaramiento e ingestión de las larvas véliger de *M. chilensis*. De igual modo, bajo la influencia de ambos compuestos puros se pudo observar cambios en las dietas de alimentos (natural) al incrementar las concentraciones de los piretroides, desde algas verdes a principalmente cianobacterias bajo el efecto de

cipermetrina pura, y desde una mezcla de algas verdes/criptófitas a solo criptófitas bajo el efecto de azametifos puro. De manera diferente, la utilización de deltametrina pura no provocó efectos de disminución en las tasas de aclaramiento ni de ingestión de las larvas de *M. chilensis*, pero si las incrementó, no registrando además grandes cambios en la preferencia de ingestión en la dieta. El uso de cipermetrina, azametifos y deltametrina comercial no causaron disminución en las tasas de aclaramiento e ingestión de las larvas de *M. chilensis* al alimentarse solo de *I. galbana*, ni tampoco generaron cambios en la ingestión de los grupos fitoplanctónicos.

6. CONCLUSIONES

La revisión bibliográfica nos muestra que compuestos antiparasitarios presentan efectos adversos sobre organismos marinos, principalmente crustáceos. El comportamiento que puede presentar cada uno de estos antiparasitarios dependerá de las propiedades físico químicas del producto así como de las características hidrodinámicas de las zonas donde se aplican, en donde se ha observado que en piretroides sintéticos muestran una mayor afinidad por la fase orgánica. Contrariamente, el antiparasitario azametifos presenta afinidad por la fase acuosa, lo que le otorgaría una dinámica de acuerdo a las corrientes de la zona en estudio.

El diseño de muestreo en cruz propuesto por nuestro grupo representa de una manera adecuada las complejas relaciones entre la velocidad de la corriente, su dirección, fluctuación de mareas y predominancia de vientos locales, las cuales son variables fundamentales para la dispersión final de los compuestos en la zona de estudio.

En general, el principal forzante en las zonas de estudio fue la fluctuación de marea, así como también la velocidad del viento con influencia en la primera capa del agua marina. Estas condiciones de hidrodinámica generan una mayor dispersión de medicamentos antiparasitarios ya sea asociados a partículas (piretroides sintéticos) o disueltos en agua (organofosforado).

Es importante hacer mención que gracias a la trayectoria realizada por los derivadores, se pudo determinar en forma más precisa la orientación de dispersión de los antiparasitarios estudiados, pudiendo escoger en forma más específica los lugares de muestreo, tanto en el agua como en el sedimento, siendo una herramienta complementaria eficaz para el muestreo.

Los resultados obtenidos en las variables ambientales del agua para la campaña son similares a lo observado en las campañas de Cimar fiordo realizado en la zona para la misma estacionalidad realizada (Silva et al., 1998), con aguas mezcladas, con temperatura que fluctúa entre los 10 y 12 °C. Los resultados en el sedimento indican que los tres centros presentan una clasificación textural de arena fina a arena muy fina, con un bajo porcentaje de materia orgánica (1-2%).

La diversidad biológica para el fitoplancton disminuyó significativamente en el post tratamiento en las campañas primavera-verano y otoño-invierno. Si bien no se presentaron grandes diferencias de diversidad entre las distancias consideradas para la toma de muestras (0, 100 y 500 m), si se observan diferencias entre sectores de muestreo Lille2, Chillidque y Quinchao para los periodos Primavera-Verano, y Punta Lucu, Paso Quenu y Puerto Haro para los periodos Otoño-Invierno. Esto influenciado directamente por fluctuaciones mareales y vientos locales.

En cuanto al Bentos los índices de diversidad de Shannon y biodiversidad de Margalef también determinaron una alta diversidad biológica en los sectores de muestreo, sin embargo, los índices mostraron valores que no superaron los 6 Bits.

La diversidad biológica varió levemente en el post tratamiento en las campañas primavera-verano y otoño-invierno, además no se presentaron grandes diferencias de diversidad entre las distancias consideradas para la toma de muestras (0, 100 y 500 m).

Para el análisis de concentraciones ambientales muy bajas, como las presentadas por los diversos antiparasitarios estudiados, es recomendable incorporar dentro de las materias estrictamente analíticas, condiciones de sensibilidad acorde con las concentraciones estimadas en el presente trabajo, es decir, cumplir con límites de detección y cuantificación cercanos a las partes por trillón (ppt) ya que estas sustentaran los resultados entregados ya sean de estudios de niveles o bien seguimiento de concentraciones.

Es necesario conocer el tiempo de ciclo de vida que tiene los antiparasitarios en estudio, las proporciones de isómeros (proporción puede estar asociada a comportamiento del analito frente a diferentes condiciones ambientales) que lo constituyen y/o sus compuestos de degradación y así asociarlos al periodo en el cual se encuentra este en el ambiente.

Dispositivos de muestreo pasivo en agua fueron herramientas útiles para la estimación de compuestos antiparasitarios a lo largo de un periodo de tratamiento, cumpliendo con el objetivo de detectar principalmente compuestos con características hidrofóbicas, tales como cipermetrina y deltametrina. No obstante, nuevas calibraciones en campo deben ser consideradas.

Los productos antiparasitarios no afectan la fijación y mortalidad de larvas premetamórficas, ni tampoco inhiben la fecundación y desarrollo de larvas en *Mytilus chilensis* a concentraciones testeadas por este estudio, determinándose efectos negativos por sobre las dosis aplicadas durante un tratamiento con antiparasitarios.

No obstante, si fueron observadas respuesta fisiológicas en larvas véliger de *M. chilensis* expuestas a cipermetrina y azametifos puros, causando una disminución en las tasas de aclaramiento e ingestión a concentraciones entre $1,56 \mu\text{g L}^{-1}$ y $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de estos antiparasitarios. Además bajo la influencia de ambos compuestos puros se originaron cambios en las dietas a medida que se incrementara progresivamente las concentraciones de antiparasitarios. La utilización de deltametrina pura no provocó efectos en la disminución en las tasas de aclaramiento ni de ingestión en larvas véliger de *M. chilensis*. En base a estos resultados se sugiere precaución en el uso de cipermetrina (compuesto puro), principalmente a concentraciones sobre $3,12 \mu\text{g L}^{-1}$, ya que afectaría el consumo de pequeñas microalgas (e.g. *I. galbana*) en larvas véliger de *M. chilensis*. De similar manera una

especial precaución con azametifos puro ya que afectaría el consumo de pequeñas microalgas y también la oferta natural de fitoplancton. En ambos casos se podría desencadenar consecuencias en la sobrevivencia y crecimiento de las larvas véliger de *M. chilensis*.

7. REFERENCIAS

- Abgrall, P., Rangeley, R.W., Burrige, L.E., Lawton, P. 2000. Sublethal effects of Azametifos on shelter use by juvenile lobsters (*Homarus americanus*). *Aquaculture* 181: 1–10.
- Altinok, I., E. Capkin, H. Boran. 2011. Influence of Bioassay Volume, Water Column Height, and Octanol–Water Partition Coefficient on the Toxicity of Pesticides to Rainbow Trout. *Bull Environ Contam Toxicol* 86: 596–600.
- ASTM (American Society for Testing and Materials), 2004. Standard guide for conducting static acute toxicity test starting with embryos of four species of saltwater bivalve mollusks: E724-98, in Annual Book of ASTM Standards, West Conshohocken, PA.
- Avaria S., 2008. Phytoplankton in the austral Chilean channels and fjords. Progress in the oceanographic knowledge of Chilean interior waters, from Puerto Montt to Cape Horn. N. Silva & S. Palma (eds.). Comité Oceanográfico Nacional - Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, pp. 89-92.
- Baillie, A.C., 1985. The biochemical mode of action of insecticides. In: Jones, N.F. (Ed.), Recent Advances in the Chemistry of Insect Control: The Royal Society of Chemistry, Special Publication, 53, pp. 1–23.
- Barata C, DJ Baird, M Medina, A Albalat & AMVM Soares, 2002b. Determining the ecotoxicological mode of action of toxic chemicals in meiobenthic marine organisms: stage-specific short tests with *Tisbe battagliai*. *Mar Ecol Prog Ser* 230: 183–194.
- Barata C, M Medina, T Telfer & DJ Baird, 2002a. Determining demographic effects of cypermethrin in the marine copepod *Acartia tonsa*: stage-specific short tests versus life- table tests. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 43: 373–378.
- Blott, J. 2010. Gradistat version 8.0: A Grain Size Distribution and Statistics Package for the Analysis of Unconsolidated sediments by Sieving or Laser Granulometer. Kenneth Pye Associates Ltd. Berkshire, UK.
- Booij K., B. Vrana & J.N. Huckins. 2007. Theory, modelling and calibration of passive samplers used in water monitoring. In *Passive Sampling Techniques in Environmental Monitoring*. Chapter 7, Vol. 48: 141-169.
- Boyle, J., McHenery, J.G., 1995, Cypermethrin as GPRD01: Determination of acute toxicity (LC50) to brown shrimp (96 hour, Semi-static). Inveresk Research International, Report 12175. (after McHenery, 2000).
- Boyle, J.; Knight, B. & McHenery, J.G., (1995a): Cypermethrin as GPRD01: Determination of acute toxicity (LC50) to *Mysidopsis bahia* (96 hour, Semi-static). Inveresk Research International, Report 10535. (after McHenery, 2000).
- Boyle, J.; Knight, B., McHenery, J.G., 1995c, Cypermethrin as GPRD01: Determination of acute toxicity (LC50) to *Corophium volutator* (10 day, Static). Inveresk Research International, Report 10645. (after McHenery, 2000).
- Bravo S, GA Boxshall & G Conroy, 2011. New cultured host and a significant expansion in the known geographical range of the sea louse *Caligus rogercresseyi*. *Bulletin of the european association of fish pathologists* 31: 156-160.
- Burrige L, JS Weis, F Cabello, J Pizarro & K Bostick, 2010. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture* 306: 7-23.
- Burrige L.E., Lyons, M.C., Wong, D.K.H., MacKeigan, K., VanGeest J.L., 2014. The acute lethality of three anti-sea lice formulations: AlphaMax®, Salmosan®, and Interlox®Paramove™50 to lobster and shrimp. *Aquaculture* 420-421: 180-186.

- Burridge LE, Haya K, Zitko V, Waddy S, 1999. The lethality of Salmosan (Azametifos) to American lobster (*Homarus americanus*) larvae, postlarvae, and adults. *Ecotoxicol Environ Saf.* 43(2):165-9.
- Burridge, L. 2013. A review of potential environmental risks associated with the use of pesticides to treat Atlantic salmon against infestations of sea lice in southwest New Brunswick, Canada. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2013/050. iv + 25 p.
- Burridge, L.E., Haya, K., Waddy, S.L., Wade, J., 2000. The lethality of anti-sea lice formulations Salmosan® (Azametifos) and Exis® (Cypermethrin) to stage IV and adult lobsters (*Homarus americanus*) during repeated short-term exposures.
- Canty M.N., J.A. Hagger, R.T.B. Moore, L. Cooper, T.S. Galloway., 2007. Sublethal impact of short term exposure to the organophosphate pesticide Azametifos in the marine mollusc *Mytilus edulis*. *Marine Pollution Bulletin* 54: 396–402.
- Clark, J.R., Goodman, L.R., Borthwick, P.W., Patrick, Jr.J.M., Cripe, G.M., Moody, P.M, Moore, J.C., Lores, E.M., 1989. Toxicity of pyrethroids to marine invertebrates and fish: a literature review and test results with sediment-sorbed chemicals. *Environ Toxicol Chem* 8: 393-401.
- Clark, J.R., Patrick, Jr.J.M., Moore, J.C., Lores, E.M., 1987. Water-borne and sediment source toxicities of six organic chemicals to grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) and amphioxus (*Brachiostoma caribaeum*). *Arch Environ Contam Toxicol* 16: 401-407.
- Carrasco, C. & Silva, N., 2010. Comparación de las características Oceanográficas Físicas y Químicas presentes en la zona de Puerto Montt a la boca del Guafo entre Invierno y la Primavera de 2004 y entre las primaveras de 1995 y 2004. *Cienc. Tecnol. Mar*, 33 (2): 17-44.
- CONA C11F (Comité Oceanográfico Nacional, CIMAR 11 Fiordos). Por Sergio Avaria, Mauricio Valenzuela & Pablo Muñoz. Composición, distribución y biomasa del microfitoplancton de la zona Puerto Montt- Boca del Guafo en invierno y primavera de 2005. Pp. 97-110.
- EMEA (European Medicine Agency), 1999. Committee for veterinary medicinal products Azametifos. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit. Report: EMEA/MRL/527/98-FINAL. 5pp.
- EMEA (European Medicine Agency), 2012. European public MRL assessment report (EPMAR) Azametifos (extension to fin fish). Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. Report: EMA/CVMP/88291/2011. 7pp.
- Ernst W, P Jackman, K Doe, F Page, G Julien, K MacKay & T Sutherland, 2001. Dispersion and toxicity to non-target aquatic organisms of pesticides used to treat sea lice on salmon farms in net pen enclosures. *Marine Pollution Bulletin* 42: 433-444.
- Ernst W., K. Doe, A. Cook, L. Burridge, B. Lalonde, P. Jackman, J.G. Aubé, F. Page. 2014. Dispersion and toxicity to non-target crustaceans of Azametifos and deltamethrin after sea lice treatments on farmed salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 424–425: 104–112.
- EULA, 2013. Determinación del posible impacto de la cipermetrina y deltametrina en el medio marino y sus efectos en *Mytilus chilensis*. Informe Final. 84 pp. Disponible en: <http://www.subpesca.cl>.
- Fairchild WL, KG Doe, PM Jackman, JT Arsenault, JG Aubé, M Losier & AM Cook, 2010. Acute and Chronic Toxicity of Two Formulations of the Pyrethroid Pesticide Deltamethrin to an Amphipod, Sand Shrimp and Lobster Larvae. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 2876, 34 pp.
- FAO, 2010. El estado mundial de la pesca y la acuicultura (versión español). Roma, Italia. <http://www.fao.org/docrep/013/i1820s/i1820s00.htm>
- FAO, 2012. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura (versión español). Roma, Italia. <http://www.fao.org/docrep/016/i2727s/i2727s00.htm>

- Frost B. W., 1972. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behaviour of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnology and Oceanography* 17: 805-815.
- Goulding A.T., Shelley L.K., Ross P.S., Kennedy C.J., 2013. Reduction in swimming performance in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following sublethal exposure to pyrethroid insecticides. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 157: 280–286.
- Haya K., LE. Burrige, IM Davies and A Ervik, 2005. A Review and Assessment of Environmental Risk of Chemicals Used for the Treatment of Sea Lice Infestations of Cultured Salmon. *Hdb Env Chem* 5: 305-340.
- Hill, I., 1985. Effects on non-target organisms in terrestrial and aquatic environments. In J. P. Leahy, ed., *The Pyrethroid Insecticides*. Taylor and Francis, London, U.K., pp. 151-262.
- Hill, I., 1989. Aquatic Organisms and Pyrethroids. *Pestic. Sci.* 27: 429-465.
- IFOP (Instituto de Fomento Pesquero), 2013. Evaluación ambiental de las actividades de lavado in situ en la acuicultura. Informe Final. Solicitado por SUBEPSCA. 196 pp.
- Kaserzon S.L., D.W. Hawker, K. Kennedy, M. Bartkow, S. Carter, K. Booij and J.F. Muellera. 2014. Characterisation and comparison of the uptake of ionizable and polar pesticides, pharmaceuticals and personal care products by POCIS and Chemcatchers. *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 16: 2517- 2526.
- Knight, B.; Boyle, J. & McHenery, J.G., 1995c. Cypermethrin as GPRD01: Determination of acute toxicity (LC50) to *Asterias rubens* (96 hour, Semi-static, Limit). Inveresk Research International, Report 10531. (after McHenery, 2000).
- Kontreczky Cs., Farkas A., Nemcsók J., and Salánki J., 1997. Short- and Long-Term Effects of Deltamethrin on Filtering Activity of Freshwater Mussel (*Anodonta cygnea* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol 38, Issue 3, 195–199.
- Köprücü K, SM Yonar & E Seker, 2010. Effects of cypermethrin on antioxidant status, oxidative stress biomarkers, behavior, and mortality in the freshwater mussel *Unio elongatulus eucirrus*. *Fish Sci* 76:1007–1013.
- Köprücü K., Yonar E. and Seker E., 2008. Effects of Deltamethrin on Antioxidant Status and Oxidative Stress Biomarkers in Freshwater Mussel, *Unio elongatulus eucirrus*. *Bull Environ Contam Toxicol*. 81:253–257.
- Labplus international. 2000. Diffraction for particle size analysis - Why use Mie theory? Malvern Instruments Ltd. England.
- Letelier, Jaime, Soto-Mardones, Luis, Salinas, Sergio, Osuna, Pedro, López, Diego, Sepúlveda, Héctor H, Pinilla, Elías, & Rodrigo, Cristian., 2011. Variabilidad del viento, oleaje y corrientes en la región norte de los fiordos Patagónicos de Chile. *Revista de biología marina y oceanografía*, 46(3), 363-377. Recuperado en 18 de enero de 2015, de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-19572011000300007&lng=es&tlng=es. 10.4067/S0718-19572011000300007.
- Livingstone, DR, 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar Pollut Bull* 42:656–666.
- Mackay, D., Shui W., Ma K. and Lee S., 2006. Handbook of Physical- Chemical properties and environmental fate for organic chemicals. Second edition. Taylor & Francis Group. Vol. IV, Chapter 8: 3715-3992.
- Margalef, D.R., 1958. Information Theory in Ecology. *General Systematics*, 3: 36-71.
- Marín V., M. E. Huntley, Frost, B. W., 1986. Measuring feeding rates of pelagic herbivores: analysis of experiment design and methods. *Marine Biology* 93: 49-58.
- Mayer, P., Tolls, J., Hermens, J.L.M., Mackay, D., 2003. Equilibrium sampling devices. *Environ. Sci. Technol.*, 185–191.

- Mayor D.J., Solan M., Martínez I., Murray L., McMillan H., Paton G.I. & Killham K., 2008. Acute toxicity of some treatments commonly used by the salmonid aquaculture industry to *Corophium volutator* and *Hediste diversicolor*: Whole sediment bioassay tests. *Aquaculture* 285: 102-108.
- McLesse, D. W., C.D. Metcalfe and V. Zitko, 1980. Lethality of permethrin, cypermethrin and fenvalerate to salmon, lobster and shrimp. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25: 950-955.
- Medina M, C Barata, T Telfer & DJ Baird, 2002. Age- and sex-related variation in sensitivity to the pyrethroid cypermethrin in the marine copepod *Acartia tonsa* Dana. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 42: 17–22.
- Medina, M., Barata, C., Telfer, T., Baird, D.J., 2004. Effects of cypermethrin on marine plankton communities: a simulated field study using mesocosms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58: 236–245.
- Milson TL, 1999. The effects of BETAMAX on the marine amphipod *Corophium volutator*, in a 10 day static exposure in seawater. Vericore Limited Report number VC99028 (after McHenery 2000)
- Newman M & M Unger, 2003. *Fundamentals of Ecotoxicology*. 2nd Edition. Lewis Publisher. Florida, USA. Chapter 13: 279-299.
- Oliveira C., J. Almeida, L. Guilhermino, AMVM Soares and C. Gravato, 2012. Acute effects of deltamethrin on swimming velocity and biomarkers of the common prawn *Palaemon serratus*. *Aquatic Toxicology*. Vol. 124-125: 209-216.
- Pahl, B., Opitz, H., 1999. Acute mortality of soft shell clam *Mya arenaria*, larvae, green sea urchin *Strongylocentrotus droenbachiensis*, larvae, and rotifers *Brachionus plicatilis*, exposed to cypermethrin (Exis). *J. Appl. Aquacult.* 9: 73–83.
- Pickard, G.L., 1971. Some physical oceanographic features of inlets of Chile. *J. Fish. Res. Bd. Canadá* 28: 1.077-1.106.
- Pielou, E.C., 1969. *An Introduction to Mathematical Ecology*. Wiley-Interscience John Wiley & Sons, 285 p.
- Roig N., M. Nadal, J. Sierra, A. Ginebreda, M. Schuhmacher, J.L. Domingo. 2011. Novel approach for assessing heavy metal pollution and ecotoxicological status of rivers by means of passive sampling methods. *Environment International* 37: 671–677.
- Rozbaczylo N., Moreno R., Montes M.J., 2014. Poliquetos bentónicos submareales recolectados durante la expedición CIMAR 10 fiordos en fondos blandos de la X región, Chile (annelida, polychaeta). *CONA-C10F 04-14*: 133-123.
- Sadzawka, A., M. Carrasco, R. Grez, M. Mora, H. Flores, A. Neaman. 2006. Perdida por calcinacion, En: *Metodos de analisis recomendados para los suelos de Chile*, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Series Actas INIA- N° 34, Santiago, 79-82 pp.
- Sakin, F., Ispir, Ü., Yonar, S.M., Enis Yonar, M., Reşk Taysi, M., 2011. Effect of short-term cypermethrin exposure on oxidant-antioxidant balance in the whole body of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). *Fresenius Environmental Bulletin* 20: 2806-2809.
- Sánchez-Lazo y Martínez-Pita, 2012. Induction of settlement in larvae of the mussel *Mytilus galloprovincialis* using neuroactive compounds. *Aquaculture* 344-349: 210-215.
- Schleier, J.J., Peterson, R.K.D., 2011. Pyrethrins and pyrethroids insecticides. (in López, O., Fernández-Bolaño, J.G., (Eds). *Green trends in insect control* (pp. 94-131). Royal Society of Chemistry. doi:10.1039/9781849732901-00094.
- Seethapathy S., T. Górecki & X. Li. 2008. Passive sampling in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 1184: 234–253
- SEPA (Scottish Environment Protection Agency), 1998. SEPA policy on the use of cypermethrin in marine fish farming risk assessment, EQS and recommendations, Policy number 30. <http://www.sepa.org.uk>

- SERNAPESCA (Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura), 2015. Registro de productos farmacéuticos de uso veterinario autorizados por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). Gobierno de Chile, Ministerio de Economía, Desarrollo y Turismo, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Disponible en <http://www.sernapesca.cl>
- Shannon, C.E., Weaver, W., 1949. *The Mathematical Theory of Communication*. University Illinois Press, Urbana, IL.
- Sievers G., Palacios P., Inostroza R. & Dölz H., 1995. Evaluation of the toxicity of 8 insecticides in *Salmo salar* and in vitro effects against the isopode parasite *Ceratothoa gaudichaudii*. *Aquaculture* 143: 9-16.
- Silva, N., Astorga, M.I., 2010. Textura, materia orgánica y composición química elemental (C y N) de sedimentos marinos superficiales de la zona Puerto Montt a Boca del Guafo (Norpatagonia chilena). *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 38(1): 1-14.
- Silva, N., C. Calvete & H. A. Sievers. 1998. Masas de agua y circulación general para algunos canales australes chilenos entre Puerto Montt y laguna San Rafael (Crucero CIMAR-Fiordo 1). *Cienc. Tecnol. Mar*, 21: 17-48.
- Silva, N., Maturana, J., Sepúlveda, J.I., Ahumada, R., 1998. Materia orgánica, C y N, su distribución y estequiometría, en sedimentos superficiales de la región norte de los fiordos y canales australes de Chile (Crucero CIMAR Fiordo 1). *Cienc. Tecnol. Mar*, 21: 49-74.
- Silva, N., Sievers, H., Prado, R., 1995. Características oceanográficas y una proposición de circulación, para algunos canales australes de Chile entre 41°20'S y 46°40'S. *Rev. Biol. Mar.* 30 (2): 207-254.
- Soderlund, D. M., Clark, J. M., Sheets, L. P., Mullin, L. S., Piccirillo, V. J., Sargent, D., Stevens, J. T., and Weiner, M. L. (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Teratology* 171: 3–59 pp.
- St George, T., Vlahos, P., Harner, T., Helm, P., Wilford, B., 2011. A rapidly equilibrating, thin film, passive water sampler for organic contaminants; characterization and field testing. *Environ. Pollut.* 159, 481–486.
- Strickland, J.D., Parsons, T.R., 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Bull Fish Res Bd Can 167.
- SUBPESCA (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura), 2016. Informe ambiental de la acuicultura: Periodo 2009-2014. Gobierno de Chile. Enero 2016. 160 pp.
- Thomas, C.R., Hose, G.C., Warne, M.St.J., Lim, R.P., 2008. Effects of river water and salinity on the toxicity of deltamethrin to freshwater shrimp, cladoceran and fish. *Archives of Environment Contamination and Toxicology* 55, 610–618.
- Tucca, F., Díaz-Jaramillo, M., Cruz, G., Silva, J., Chiang, G., Bay-Schmith, E., Barra, R., 2014a. Toxic effects of antiparasitic pesticides used by the salmon industry in the marine amphipod *Monocorophium insidiosum*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 67:139-148.
- Tucca, F., Moya, H., Barra, R., 2014b. Ethylene vinyl acetate polymer as a tool for passive sampling monitoring of hydrophobic chemicals in the salmon farm industry. *Marine Pollution Bulletin* 88: 174-179.
- US EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 1994. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to freshwater organisms. EPA-600-4-91-002.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) and Office of Pesticide Programs. 2013. Pesticide Ecotoxicity Database (Formerly: Environmental Effects Database (EEDB)). Environmental Fate and Effects Division, U.S.EPA, Washington, D.C. Disponible en: <http://cfpub.epa.gov/ecotox/>.

- Valenzuela, M., Avaria, S., 2009. Distribución del microfitoplancton marino entre el Seno Reloncaví y Boca del Guafo en invierno y primavera de 2005 (Crucero CIMAR 11 Fiordos). *Cienc. Tecnol. Mar*, 32 (2): 43-77.
- Velisek, J., J. Jurčíková, R. Dobsíková, Z. Svobodová, V. Piacková, J. Máchová, L. Novotny. 2007. Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23: 297–301.
- Vrana, B., Mills, G.A., Allan, I.J., Dominiak, E., Svensson, K., Knutsson, J., Morrison, G., Greenwood, R., 2005. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *Trends Anal. Chem.* 24:845–868.
- Wang, Z., Nie, X., Yue, W., Li, X., 2011a. Physiological Responses of Three Marine Microalgae Exposed to Cypermethrin. *Environmental Toxicology*: 563-572.
- Wang, Z., Nie, X., Yue, W., Li, X., 2011b. Toxicological effects of cypermethrin to marine phytoplankton in a co-culture system under laboratory conditions. *Ecotoxicology* (2011) 20, 1258–1267.
- Wang, Z., Yang Y., Yue, W., Kang, W., Liang, W., Li, W., 2010a. The growth behavior of three marine phytoplankton species in the presence of commercial cypermethrin. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 1408-1414.
- Wang, Z., Yue, W., Kang, W., Yang, Y., 2010b. Responses of the macroalga *Gracilaria lemaneiformis* to the stress of cypermethrin, a pyrethroid insecticide. *Huanjing Kexue Xuebao/Acta Scientiae Circumstantiae* 30: 1658-1665.
- Wentworth, C.K. 1922. A scale of grade and class terms for clastic sediments. *Journal of Geology*, 30: 377-392.
- Willis K.J., P.A. Gillibrand, C.J. Cromey, K.D. Black, 2005. Sea lice treatments on salmon farms have no adverse effects on zooplankton communities: a case study. *Marine Pollution Bulletin* 50: 806–816
- Xiong, L., Xie, P., Sheng, X., Wu, Z., Xie, L., 2005. Toxicity of cypermethrin on growth, pigments, and superoxide dismutase of *Scenedesmus obliquus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60: 188–192.
- Yonar, SM, Sakin, F., Yonar, ME, Ispir, U., Kirici, M., 2011. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). *Fresenius environmental bulletin* 20: 1931-1935.
- Zar, J.H., 1996. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, Inc., New Jersey.

8. ANEXOS

Anexo I (Objetivo específico 1)

Base de datos ecotoxicológica para organismos marinos.

Cipermetrina

Especies	Taxa	CL50/EC50-96h (µg/L)	Referencias
<i>Skeletonema costatum</i>	Microalga	75,3	Wang et al., 2010a
<i>Scrippsiella trochoidea</i>	Microalga	227	Wang et al., 2010a
<i>Chattonella marina</i>	Microalga	114	Wang et al., 2010a
<i>Skeletonema costatum</i>	Microalga	71,4	Wang et al., 2011a
<i>Scrippsiella trochoidea</i>	Microalga	205	Wang et al., 2011a
<i>Chattonella marina</i>	Microalga	191	Wang et al., 2011a
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Microalga	112,45	Xiong et al., 2005
<i>Skeletonema costatum</i>	Microalga	143	Wang et al., 2011b
<i>Chattonella marina</i>	Microalga	105	Wang et al., 2011b
<i>Scrippsiella trochoidea</i>	Microalga	135	Wang et al., 2011b
<i>Polydora cornuta (adulto)</i>	Anélido	27,8	Ernst et al., 2001
<i>Crassostrea virginica (adulto)</i>	Bivalvo	370	Hill, 1985
<i>Crassostrea gigas (adulto)</i>	Bivalvo	2300	Hill, 1985
<i>Unio elongatulus eucirrus (adulto)</i>	Bivalvo	59,2	Kroprucu et al., 2010
<i>Gammarus spp.(adulto)</i>	Crustáceo	0,36	Ernst et al., 2001
<i>Mysidopsis bahia (adulto)</i>	Crustáceo	0,005	Hill, 1985
<i>Palaemonetes pugio (juveniles)</i>	Crustáceo	0,016	Clark et al., 1987
<i>Crangon septemspinosa (adulto)</i>	Crustáceo	0,01	McLeese et al., 1980
<i>Uca pugilator (adulto)</i>	Crustáceo	0,2	Hill, 1985
<i>Acartia tonsa (nauplio)</i>	Crustáceo	0,005	Medina et al., 2002
<i>Acartia tonsa (adulto)</i>	Crustáceo	0,142	Medina et al., 2002
<i>Tisbe battagliai (nauplio)</i>	Crustáceo	0,0373	Barata et al., 2002b
<i>Americamysis bahia</i>	Crustáceo	0,005	USEPA & Office Pesticide Program, 2013
<i>Mysidopsis bahia</i>	Crustáceo	0,006	Boyle et al., 1995a
<i>Crangon crangon</i>	Crustáceo	0,034	Boyle & McHenery, 1995
<i>Corophium volutator</i>	Crustáceo	0,213	Boyle et al., 1995c
<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>	Equinodermo	50	Ernst et al., 2001
<i>Asterias rubens</i>	Equinodermo	1000	Knigh et al., 1995b
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Pez	8,1	Ernst et al., 2001
<i>Cyprinodon variegatus</i>	Pez	1	Hill, 1985
<i>Salmon salar</i>	Pez	2	McLeese et al., 1980
<i>Oncorhynchus mykiss (adultos)</i>	Pez	80	Altinok et al., 2011

Deltametrina

Especies	Taxa	CL50/EC50-96h (µg/L)	Referencias
<i>Unio elongatulus eucirrus</i> (adulto)	Bivalvo	6600	Koprucu et al, 2008
<i>Crassostrea virginica</i>	Bivalvo	12	WHO, 1990
<i>Palaemon serratus</i> (adulto)	Crustáceo	0,048	Oliveira et al., 2012
<i>Paratya australiensis</i>	Crustáceo	0,035	Thomas et al., 2008
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Crustáceo	0,02	Thomas et al., 2008
<i>Palaemon serratus</i> (adulto)	Crustáceo	0,048	Oliveira et al., 2012
<i>Tisbe battagliai</i> (Nauplio)	Crustáceo	0,0151	Barata et al., 2002b
<i>Americamysis bahia</i>	Crustáceo	0,018	USEPA & Office Pestide Program, 2013
<i>Americamysis bahia</i>	Crustáceo	0,017	USEPA & Office Pestide Program, 2013
<i>Americamysis bahia</i>	Crustáceo	0,037	USEPA & Office Pestide Program, 2013
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (juveniles)	Pez	1	Velísek et al., 2007

Azametifos

Especies	Taxa	LC50 (µg/L)	Tiempo (hrs)	Referencias
<i>Mytilus edulis</i> (adulto)	Bivalvo	740	24	Canty et al., 2007
<i>Mytilus edulis</i> (adulto)	Bivalvo	1300	24	Canty et al., 2008
<i>Temora longicornis</i> (adulto)	Crustáceo	10	24	Haya et al., 2005
<i>Homarus gammarus</i> (larvas)	Crustáceo	0,5	96	Haya et al., 2005
<i>Mysidopsis bahía</i> (adulto)	Crustáceo	0,52	96	Haya et al., 2005
<i>Eohaustorius estuarius</i> (adulto)	Crustáceo	3	48	Ernst et al., 2001
<i>Homarus americanus</i>	Crustáceo	500	24	Abgrall et al., 2000
<i>Salmo salar</i> (juvenil)	Pez	3000	1	Sievers et al., 1995

Zona de estudio y batimetría

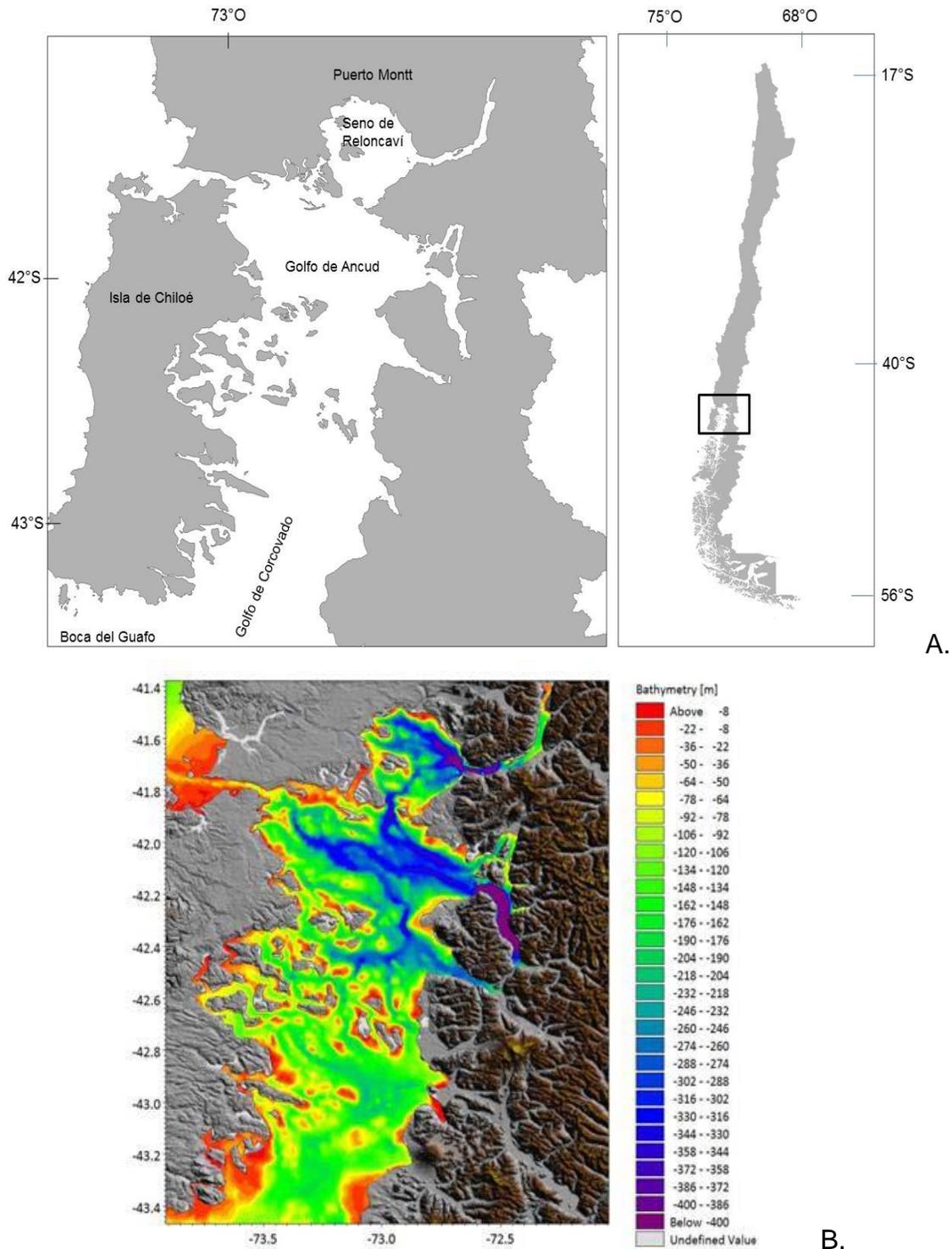


Figura. Localización general del área de estudio, golfos, canales y mares interiores de la Isla de Chiloé, Región de Los Lagos (A). Batimetría de la zona en estudio (extraído desde IFOP, 2013) (B).

Anexo II (Objetivo específico 2)

En la siguiente Tabla se muestran las fechas de monioteo en los diferentes centros de cultivos estudiados por el proyecto FIPA 2014-42.

Tabla. Especificación de las fechas de muestreo durante las diferentes campañas de muestreo.

Centros de cultivo		Muestreos									
		Agua		Sedimento		Corrientes*		Biota		MP	
Campaña	Concesión	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
Prim-ver	C. Quinchao	8/11/14	10/11/14	8/11/14	25/11/14	8/11/14	10/11/14	8/11/14	25/11/14	8/11/14	16/11/14
Prim-ver	C. Chillidque	9/11/14	13/11/14	9/11/14	24/11/14	9/11/14	12/11/14	9/11/14	24/11/14	9/11/14	15/11/14
Prim-ver	C. Lille 2	12/12/14	16/12/14	12/12/14	20/12/14	-	16/12/14	12-16/12/14	20/12/14	12/12/14	20/12/14
Oto-inv	C. Puerto Haro	9/04/15	10/04/15	9/04/15	21/04/15	-	10/04/15	9/04/15	21/04/15	9/04/15	21/04/15
Oto-inv	C. Punta Lucu	23/04/15	25/04/15	23/04/15	30/04/15	23/04/15	-	23/04/15	30/04/15	23/04/15	30/04/15
Oto-inv	C. Paso Quenu	6/07/15	6/07/15	6/07/15	11/07/15	-	11/07/15	6/07/15	11/07/15	6/07/15	11/07/15

MP= muestreadores pasivos; Pre= pretratamiento; Post= postratamiento.

*NOTA: Durante las campañas de monitoreo existieron problemas logísticos con respecto a la disponibilidad del bote para poder completar las mediciones de corriente lagrangiana en campo (con respecto a los tiempos señalados en la metodología de trabajo). No obstante, las mediciones realizadas permitieron comprender las características hidrodinámicas de la zon en estudio.

En la siguiente Tabla se muestra el número total de muestras colectadas y analizadas para la detección de antiparasitarios en las matrices agua - sedimento.

Tabla. Número total de muestras colectadas y analizadas para cada centro de cultivo estudiado por el proyecto FIPA 2014-42.

Campaña	Centro de cultivo	Antiparasitario	Matrices	
			Agua (N°colectadas/N°analizadas)	Sedimento (N°colectadas/N°analizadas)
Primavera-verano	Quinchao	Deltametrina	84/84	38/38
	Chillidque	Cipermetrina	84/84	20/20
	Lille 2	Azametifos	84/84	42/42
Blancos (prim-ver)			3/3	3/3
Otoño-invierno	Puerto Haro	Deltametrina	84/84	42/42
	Punta Lucu	Azametifos	84/84	18/18
	Paso Quenu	Cipermetrina	84/84	30/30
Blancos (oto-inv)			3/3	3/3
Total Muestras			510	196

Nota: Para sedimento el número de muestra fue variable debido a las características del fondo en cada zona de estudio, las cuales no permitieron completar el número total de muestras propuestas desde un inicio (42 muestras total). Detalles del número de muestras y sus análisis se muestran en Base de datos, planilla "CONCANTI".

Compuestos de referencia para la calibración de muestreadores pasivos.

	Log Kow	Log K _{ow} -w
Trifluralin	4,19	4,4
Alfa-HCH	3,8	4,26
HCB	4,13	4,43
tecV	4,7	4,4
PCA	5,45	4,43
Gama-HCH	3,85	4,36
PCNB	4,22	4,32
Aldrin	3,01	2,5
Cypermethrin	5,62	5,8

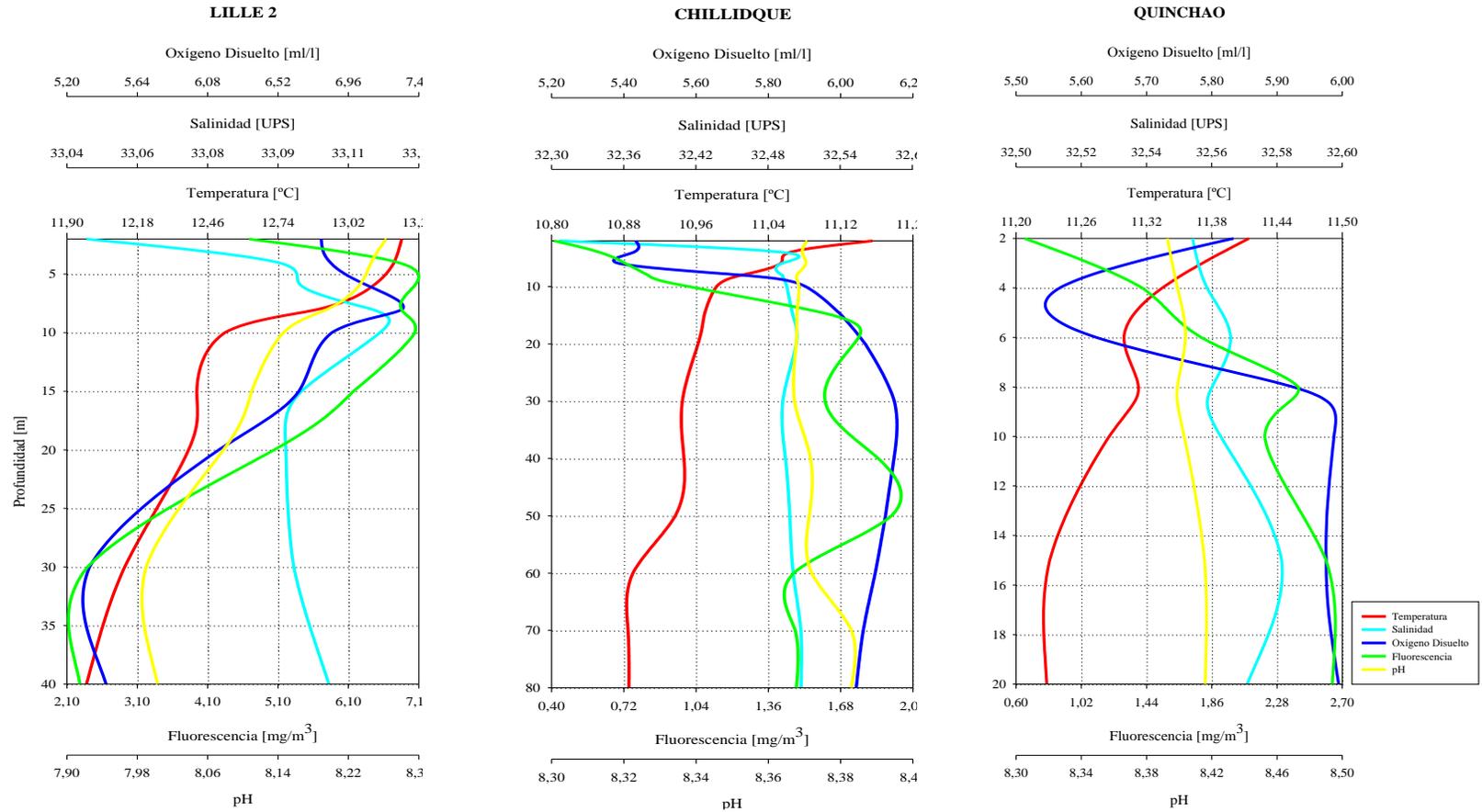
NOTA: Se incorporó en base de datos (CD-ROM) una planilla Excel con los cálculos de concentraciones para muestreadores pasivos en agua.

Anexo III (Objetivo específico 3)

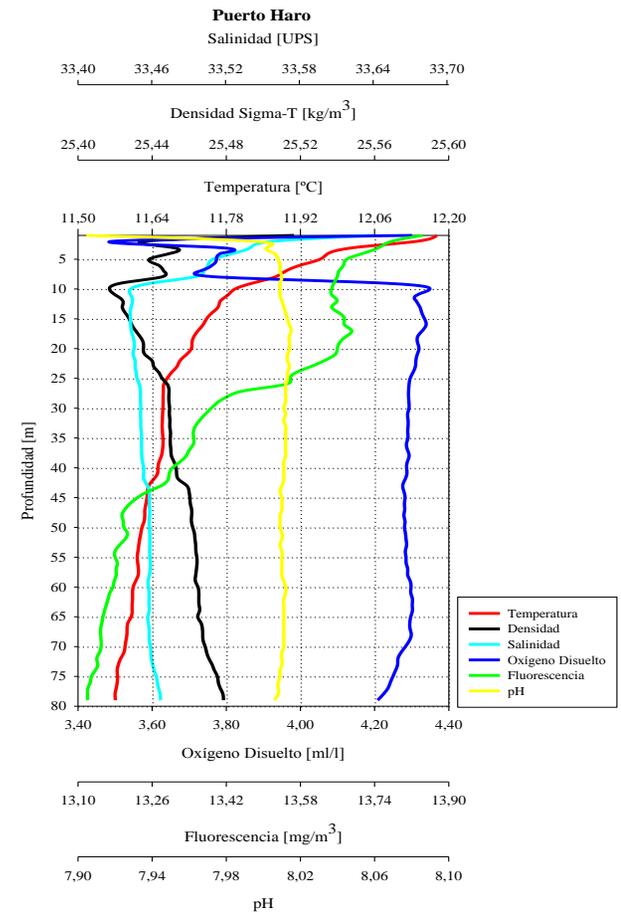
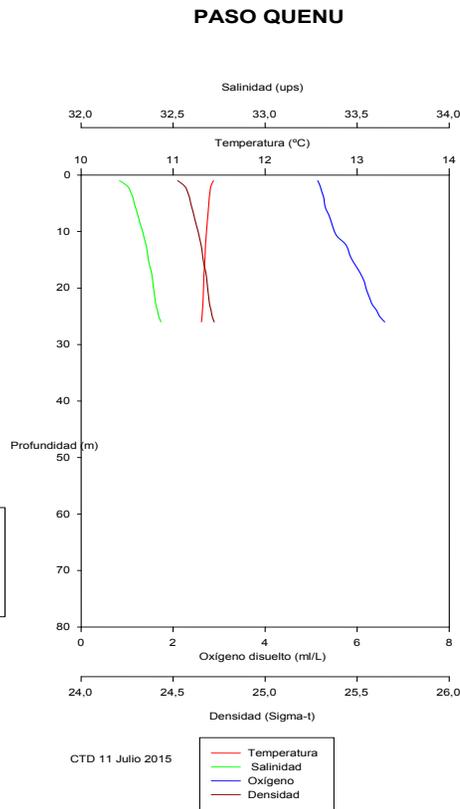
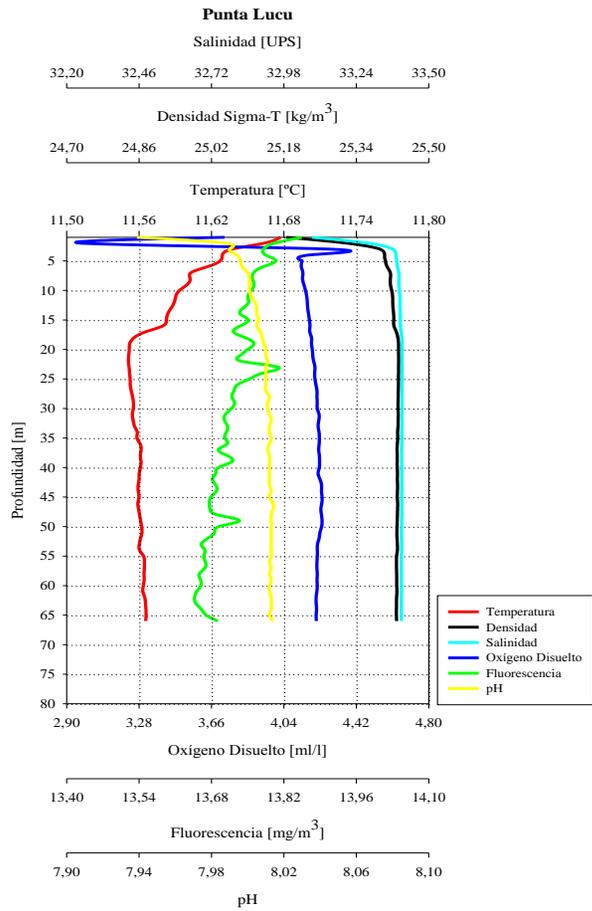
Una planilla Excel se elaboró con todas las especificaciones de curvas de calibración y porcentajes de recuperación para cada uno de los compuestos antiparasitarios en estudio. La información fue copiada en CD-ROM en la carpeta “Base de datos”.

Perfiles verticales de variables ambientales en la columna de agua.

Campaña primavera-verano



Campaña otoño-invierno



Anexo IV (Objetivo específico 4)

Imágenes de los derivadores instalados en las zonas de estudio





Anexo V (Objetivo específico 5)

Una planilla Excel fue elaborada con todas las especies identificadas para fitoplancton y bentos durante las dos campañas de monitoreo. La información se adjunta en CD-ROM.

Anexo VI (Objetivo específico 6)

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de fijación de larvas premetamórficas de *Mytilus chilensis* expuestas a Cipermetrina pura.

Cipermetrina con *Mytilus chilensis*
 File: ciperme Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	6	22.667	3.778	0.778
Within (Error)	14	68.000	4.857	
Total	20	90.667		

Critical F value = 2.85 (0.05, 6, 14)
 Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho: All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 control	22.333	22.333		
2 control acetona	23.667	23.667	-0.741	
3 0.05	24.000	24.000	-0.926	
4 0.5	22.000	22.000	0.185	
5 5	22.000	22.000	0.185	
6 50	21.333	21.333	0.556	
7 500	21.000	21.000	0.741	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROU IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 control	3			
2 control acetona	3	4.553	20.4	-1.333
3 0.05	3	4.553	20.4	-1.667
4 0.5	3	4.553	20.4	0.333
5 5	3	4.553	20.4	0.333
6 50	3	4.553	20.4	1.000
7 500	3	4.553	20.4	1.333

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de fijación de larvas premetamórficas de *Mytiluschilensis* expuestas a Betamax®

File: Betfi Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	255.611	51.122	5.543
Within (Error)	12	110.667	9.222	
Total	17	366.278		

Critical F value = 3.11 (0.05,5,12)
 Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 Control	17.333	17.333		
2 100	13.000	13.000	1.748	
3 200	13.667	13.667	1.479	
4 400	12.000	12.000	2.151	
5 800	6.333	6.333	4.436	*
6 1600	7.333	7.333	4.033	*

Dunnett table value = 2.50 (1 Tailed Value, P=0.05, df=12,5)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 Control	3			
2 100	3	6.199	35.8	4.333
3 200	3	6.199	35.8	3.667
4 400	3	6.199	35.8	5.333
5 800	3	6.199	35.8	11.000
6 1600	3	6.199	35.8	10.000

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de fijación de larvas premetamórficas de *Mytilus chilensis* expuestas a Deltametrina pura.

Deltametrina con *Mytilus chilensis*
 File: delta Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	6	17.810	2.968	0.402
Within (Error)	14	103.333	7.381	
Total	20	121.143		

Critical F value = 2.85 (0.05,6,14)
 Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho: All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 control	24.333	24.333		
2 control acetona	24.667	24.667	-0.150	
3 0,1	23.667	23.667	0.301	
4 1	24.000	24.000	0.150	
5 10	22.667	22.667	0.751	
6 100	22.667	22.667	0.751	
7 1000	22.000	22.000	1.052	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 control	3			
2 control acetona	3	5.612	23.1	-0.333
3 0,1	3	5.612	23.1	0.667
4 1	3	5.612	23.1	0.333
5 10	3	5.612	23.1	1.667
6 100	3	5.612	23.1	1.667
7 1000	3	5.612	23.1	2.333

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de fijación de larvas premetamórficas de *Mytilus chilensis* expuestas a Azametifos puro.

Azamethiphospuro con *Mytilus chilensis*
 File: Azapuro Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	6	92.667	15.444	2.177
Within (Error)	14	99.333	7.095	
Total	20	192.000		

Critical F value = 2.85 (0.05,6,14)
 Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho: All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 control	22.333	22.333		
2 25	19.667	19.667	1.226	
3 50	19.333	19.333	1.379	
4 100	20.333	20.333	0.920	
5 200	24.333	24.333	-0.920	
6 400	23.000	23.000	-0.307	
7 800	18.000	18.000	1.992	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff	% of DIFFERENCE (IN ORIG. UNITS)	CONTROL	FROM CONTROL
1 control	3				
2 25	3		5.502	24.6	2.667
3 50	3		5.502	24.6	3.000
4 100	3		5.502	24.6	2.000
5 200	3		5.502	24.6	-2.000
6 400	3		5.502	24.6	-0.667
7 800	3		5.502	24.6	4.333

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de inhibición de fecundación en gametos de chorito expuestos a cipermetrina pura.

Cipermetrina

File: CIPmyt

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	4	96.933	24.233	3.275
Within (Error)	10	74.000	7.400	
Total	14	170.933		

Critical F value = 3.48 (0.05,4,10)

Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho: All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 C agua	22.000	22.000		
2 C acetona	29.333	29.333	-3.302	*
3 0.001	23.000	23.000	-0.450	
4 1	25.667	25.667	-1.651	
5 100	25.333	25.333	-1.501	

Dunnett table value = 2.89 (2 Tailed Value, P=0.05, df=10,4)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICAT.	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 C agua	3			
2 C acetona	3	6.419	29.2	-7.333
3 0.001	3	6.419	29.2	-1.000
4 1	3	6.419	29.2	-3.667
5 100	3	6.419	29.2	-3.333

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de inhibición de fecundación en gametos de chorito expuestos a cipermetrina comercial.

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES
Version 1.5

Cipermetrina x Fecundacion

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls	Predicted Proportion Responding
Control	100	15	0.1470	0.0000	0.1209
12.5000	100	21	0.2130	0.1047	0.2327
25.0000	100	25	0.2500	0.1468	0.3223
50.0000	100	58	0.5760	0.5177	0.4236
100.0000	100	73	0.7300	0.6929	0.5302
200.0000	100	79	0.7900	0.7611	0.6347
400.0000	100	84	0.8400	0.8180	0.7301
800.0000	100	81	0.8130	0.7873	0.8110
1600.0000	100	80	0.7960	0.7679	0.8750
3200.0000	100	90	0.9000	0.8862	0.9220

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 46.687

Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)=14.067

Mu = 1.914980 Sigma = 1.120757

Parameter	Estimate	Std. Err.	95% Confidence Limits	
Intercept	3.291352	0.488206	(2.136745,	4.445959)
Slope	0.892254	0.202923	(0.412340,	1.372167)
Spontaneous Response Rate	0.120927	0.083381	(-0.076269,	0.318123)

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.203	0.000	2.914
LC/EC 5.00	1.179	0.002	9.544
LC/EC 10.00	3.010	0.013	18.194
LC/EC 15.00	5.668	0.048	28.366
LC/EC 50.00	82.221	10.717	234.341
LC/EC 85.00	1192.704	411.289	11337.475
LC/EC 90.00	2245.654	705.485	39221.738
LC/EC 95.00	5734.739	1454.222	266203.531
LC/EC 99.00	33281.141	5079.164	10743813.000

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de inhibición de fecundación en gametos de chorito expuestos a deltametrina pura.

Deltametrina / M. chilensis
 File: deltCh Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	4	94.933	23.733	2.507
Within (Error)	10	94.667	9.467	
Total	14	189.600		

Critical F value = 3.48 (0.05,4,10)
 Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho: All equal

Deltametrina / M. chilensis
 File: deltCh Transform: NO TRANSFORMATION

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 Control agua	22.000	22.000		
2 control acetona	29.333	29.333	-2.919	*
3 0,001	26.667	26.667	-1.858	
4 1	26.667	26.667	-1.858	
5 100	28.333	28.333	-2.521	

Dunnett table value = 2.89 (2 Tailed Value, P=0.05, df=10,4)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICAT.	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 Control agua	3			
2 control acetona	3	7.260	33.0	-7.333
3 0,001	3	7.260	33.0	-4.667
4 1	3	7.260	33.0	-4.667
5 100	3	7.260	33.0	-6.333

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de inhibición de fecundación en gametos de chorito expuestos a ALPHA MAX.

AMX x Fecundacion

File: AlphFeTransform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	6	67.333	11.222	0.765
Within (Error)	14	205.333	14.667	
Total	20	272.667		

Critical F value = 2.85 (0.05,6,14)
 Since $F < \text{Critical } F$ FAIL TO REJECT H_0 : All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	MEAN	ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 Control	20.333	20.333		
2	19.667	19.667	0.213	
3 100	24.667	24.667	-1.386	
4 200	21.333	21.333	-0.320	
5 400	19.667	19.667	0.213	
6 800	23.000	23.000	-0.853	
7 1600	23.000	23.000	-0.853	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, $P=0.05$, $df=14,6$)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 Control	3			
2	3	7.911	38.9	0.667
3 100	3	7.911	38.9	-4.333
4 200	3	7.911	38.9	-1.000
5 400	3	7.911	38.9	0.667
6 800	3	7.911	38.9	-2.667
7 1600	3	7.911	38.9	-2.667

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de inhibición de fecundación en gametos de chorito expuestos a azametifos comercial.

Azamethiphos x Fecundacion
File: MytAzaTransform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	92.444	18.489	1.285
Within (Error)	12	172.667	14.389	
Total	17	265.111		

Critical F value = 3.11 (0.05,5,12)
Since $F < \text{Critical } F$ FAIL TO REJECT H_0 : All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 Cont	17.333	17.333		
2 50	21.333	21.333	-1.291	
3 200	20.333	20.333	-0.969	
4 800	25.000	25.000	-2.475	
5 3200	21.333	21.333	-1.291	
6 6400	22.000	22.000	-1.507	

Dunnett table value = 2.90 (2 Tailed Value, P=0.05, df=12,5)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 Cont	3			
2 50	3	8.982	51.8	-4.000
3 200	3	8.982	51.8	-3.000
4 800	3	8.982	51.8	-7.667
5 3200	3	8.982	51.8	-4.000
6 6400	3	8.982	51.8	-4.667

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de inhibición desarrollo larval expuestos a cipermetrina pura.

Cipermetrina / larva D

File: CipLaD

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	7	2945.958	420.851	32.065
Within (Error)	16	210.000	13.125	
Total	23	3155.958		

Critical F value = 2.66 (0.05,7,16)
 Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 Control agua	27.667	27.667		
2 Control acetona	62.000	62.000	-11.607	*
3 0.001	24.667	24.667	1.014	
4 0.01	31.667	31.667	-1.352	
5 0.1	32.333	32.333	-1.578	
6 1	30.667	30.667	-1.014	
7 10	33.000	33.000	-1.803	
8 100	42.333	42.333	-4.958	*

Dunnett table value = 2.92 (2 Tailed Value, P=0.05, df=16,7)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICAT.	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 Control agua	3			
2 Control acetona	3	8.637	31.2	-34.333
3 0.001	3	8.637	31.2	3.000
4 0.01	3	8.637	31.2	-4.000
5 0.1	3	8.637	31.2	-4.667
6 1	3	8.637	31.2	-3.000
7 10	3	8.637	31.2	-5.333
8 100	3	8.637	31.2	-14.667

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de inhibición desarrollo larval expuestos a cipermetrina comercial.

Betamax / chorito

File: Betla

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	2046.444	409.289	35.082
Within (Error)	12	140.000	11.667	
Total	17	2186.444		

Critical F value = 3.11 (0.05,5,12)

Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Control	21.000	21.000		
2	100	21.333	21.333	-0.120	
3	200	27.667	27.667	-2.390	
4	400	40.000	40.000	-6.813	*
5	800	44.000	44.000	-8.247	*
6	1600	47.333	47.333	-9.442	*

Dunnett table value = 2.90 (2 Tailed Value, P=0.05, df=12,5)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Control	3			
2	100	3	8.088	38.5	-0.333
3	200	3	8.088	38.5	-6.667
4	400	3	8.088	38.5	-19.000
5	800	3	8.088	38.5	-23.000
6	1600	3	8.088	38.5	-26.333

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de inhibición desarrollo larvario expuestos a deltametrina pura.

Deltametrina pura / Larva D
 File: DeStld Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	7	2891.292	413.042	30.131
Within (Error)	16	219.333	13.708	
Total	23	3110.625		

Critical F value = 2.66 (0.05,7,16)
 Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 Control agua	27.667	27.667		
2 Control acetona	62.000	62.000	-11.357	*
3 0.001	35.667	35.667	-2.646	
4 0.01	27.333	27.333	0.110	
5 0.1	26.667	26.667	0.331	
6 1	29.667	29.667	-0.662	
7 10	30.000	30.000	-0.772	
8 100	32.000	32.000	-1.433	

Dunnett table value = 2.92 (2 Tailed Value, P=0.05, df=16,7)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 Control agua	3			
2 Control acetona	3	8.827	31.9	-34.333
3 0.001	3	8.827	31.9	-8.000
4 0.01	3	8.827	31.9	0.333
5 0.1	3	8.827	31.9	1.000
6 1	3	8.827	31.9	-2.000
7 10	3	8.827	31.9	-2.333
8 100	3	8.827	31.9	-4.333

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de inhibición desarrollo larvario expuestos a deltametrina comercial AMX®.

Deltametrina /larva D

File: E:\DELLAD.

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	20803.167	4160.633	205.182
Within (Error)	12	243.334	20.278	
Total	17	21046.500		

Critical F value = 3.11 (0.05,5,12)
 Since F > Critical F REJECT Ho: All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 Control agua	21.000	21.000		
2 100	31.000	31.000	-2.720	
3 200	30.667	30.667	-2.629	
4 400	30.333	30.333	-2.538	
5 800	100.000	100.000	-21.486	*
6 1600	100.000	100.000	-21.486	*

Dunnett table value = 2.90 (2 Tailed Value, P=0.05, df=12,5)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICAT.	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 Control agua	3			
2 100	3	10.663	50.8	-10.000
3 200	3	10.663	50.8	-9.667
4 400	3	10.663	50.8	-9.333
5 800	3	10.663	50.8	-79.000
6 1600	3	10.663	50.8	-79.000

Análisis estadístico de los datos del bioensayo de inhibición desarrollo larvario expuestos a azametifos comercial.

Azamethiphos x Fecundacion
 File: MytAzaTransform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	92.444	18.489	1.285
Within (Error)	12	172.667	14.389	
Total	17	265.111		

Critical F value = 3.11 (0.05,5,12)
 Since $F < \text{Critical } F$ FAIL TO REJECT H_0 : All equal

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1 Cont	17.333	17.333		
2 50	21.333	21.333	-1.291	
3 200	20.333	20.333	-0.969	
4 800	25.000	25.000	-2.475	
5 3200	21.333	21.333	-1.291	
6 6400	22.000	22.000	-1.507	

Dunnett table value = 2.90 (2 Tailed Value, P=0.05, df=12,5)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control=Treatment

GROUP IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1 Control	3			
2 50	3	8.982	51.8	-4.000
3 200	3	8.982	51.8	-3.000
4 800	3	8.982	51.8	-7.667
5 3200	3	8.982	51.8	-4.000
6 6400	3	8.982	51.8	-4.667