



INFORME FINAL

Evaluación de los efectos de las pinturas anti-incrustantes
en las comunidades bentónicas del medio marino.

FIPA N° 2014-46 / Enero 2017



INFORME FINAL

Evaluación de los efectos de las pinturas anti-incrustantes
en las comunidades bentónicas del medio marino.

FIPA N° 2014-46 / Enero 2017

REQUIRENTE

CONSEJO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA Y ACUICULTURA
Presidente del Consejo
Raúl Súnico Galdames

EJECUTOR

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO, IFOP
Director Ejecutivo
Leonardo Núñez Montaner

Jefe División Investigación en Acuicultura
F. Leonardo Guzmán Méndez

JEFE DE PROYECTO

Rodrigo Vera Sepúlveda



FIPA N° 2014-46 / Enero 2017

AUTORES

Marina Oyarzún Vera
Claudia Pérez Sáez
Elías Pinilla Matamala
Daniel Segura Vergara
Rodrigo Vera Sepúlveda

Colaboradores

Vladimir Murillo Aro
Angélica Alarcón Delgado
Johana Ojeda Palma
Carolina Aguirre Muñoz



ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y ANEXO	2
1. RESUMEN EJECUTIVO	12
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo General	18
2.2 Objetivos específicos	18
3 ANTECEDENTES	20
4. METODOLOGÍA DE TRABAJO	25
4.1 Objetivo específico 1	25
4.2 Objetivo específico 2	30
4.3 Objetivo específico 3	33
4.4 Objetivo específico 4	39
4.5 Objetivo específico 5	40
5. RESULTADOS	42
5.1 Objetivo específico 1	42
5.2 Objetivo específico 2	49
5.3 Objetivo específico 3	51
5.4 Objetivo específico 4	58
5.5 Objetivo específico 5	65
6. DISCUSIÓN	75
7. CONCLUSIONES	89
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
9. HORAS HOMBRE	103



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISIÓN INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA

FIGURAS

TABLAS

ANEXOS.

ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y ANEXOS



Figuras:

Figura 1. Localización del centro de cultivo Chequian, en Chiloé central.	107
Figura 2. Ubicación de lances exploratorios (47) para muestreo de sedimento.	108
Figura 3. Ubicación de puntos de muestreo efectivos (16) de sedimento en centro Chequian.	109
Figura 4. Dominio regional Chiloé del modelo hidrodinámico, los colores representan la batimetría. El cuadrado rojo representa el área donde se implementa modelo local de alta resolución.	110
Figura 5. a) Dominio de alta resolución en Chiloé central y b) detalle en Chequian con malla de elementos triangulares. Rectángulos negros indican ubicación de las balsas jaulas de salmónidos.	111
Figura 6. Velocidad media de sedimentación de las partículas fecales de salmón del Atlántico para tres clases de tamaños diferentes de peces (600g - columnas blanca, 1500 g de - columnas gris claro, y 3500g - columna gris oscuro) de Bannister 2016.	112
Figura 7. Esporas germinadas en agua control, de aspecto normal, característico de <i>Macrocystis pyrifera</i> . Largo promedio de la estructura: 13,7 μm .	113
Figura 8. Esporas germinadas en agua con Zn con tubo de germinación corto, consideradas normales.	114
Figura 9. Esporas germinadas en agua con Zn, consideradas anormales, carentes de tubo de germinación (a, b) y de color desteñido (c).	115
Figura 10. Perfiles de salinidad (psu), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y oxígeno (mg/L) en columna de agua para estaciones 1, 2 y 3, en septiembre del 2015, en el centro Chequian.	116
Figura 11. Perfiles de salinidad (psu), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y oxígeno (mg/L) en columna de agua para estaciones 1, 2 y 3, en Enero del 2015, en el centro Chequian.	117
Figura 12. Mapa de contornos de la variabilidad temporal, y promedios verticales para las componentes U y V de la corriente residual observada en Chequian. (Abajo) Nivel del mar observado por sensor instalado en estructura de ADCP para mismo periodo.	118
Figura 13. Espectros de energía calculados con 10 grados de libertad por el método de Welch para las componentes U y V de la corriente barotrópica observada en Chequian.	119
Figura 14. Espectro de energía calculado con 10 grados de libertad por el método de Welch para el nivel del mar observado en Chequian.	120



-
- Figura 15.** Componente U-ESTE de la corriente a 5, 10, 20, 30 y 40m. de profundidad del modelo MIKE3 (rojo) y la observación (negro) en Chequian. Junto a las series de tiempo aparecen los índices estadísticos RMSE (raíz de error medio cuadrático), NRMSE (RMSE normalizado) y la correlación (r). **121**
- Figura 16.** Componente V-NORTE de la corriente a 5, 10, 20, 30 y 40m. de profundidad del modelo MIKE3 (rojo) y la observación (negro) en Chequian. Junto a las series de tiempo aparecen los índices estadísticos RMSE (raíz de error medio cuadrático), NRMSE (RMSE normalizado) y la correlación (r). **122**
- Figura 17.** Rosas de corrientes a 10m observada (arriba izquierda) y modelada (arriba izquierda) y corriente a 40 m observada (abajo izquierda) y modelada (abajo derecha).. **123**
- Figura 18.** Mapa con la ubicación de los puntos de evaluación de modelo hidrodinámico. **124**
- Figura 19.** . Componente u_este y v_norte de la corriente a 5m del modelo MIKE3 (rojo) y la observación (negro) en Curaco de Vélez (Canal Dalcahue). Abajo, rosas de corrientes a 5m observada (izquierda) y modelada por MIKE3 (derecha). Junto a las series de tiempo aparecen los índices estadísticos RMSE (raíz de error medio cuadrático) y la correlación (r). **125**
- Figura 20.** Componente u_este y v_norte de la corriente a 10 y 40 m del modelo MIKE3 (rojo) y la observación (negro) junto a sus respectivas rosas de corrientes observada (izquierda) y modelada (derecha) en Isla Linlin. Junto a las series de tiempo aparecen los índices estadísticos RMSE (raíz de error medio cuadrático) y la correlación (r) **126**
- Figura 21.** Componente u_este y v_norte de la corriente a 5 y 40 m del modelo MIKE3 (rojo) y la observación (negro) junto a sus respectivas rosas de corrientes observada (izquierda) y modelada (derecha) en Pta. Tutil . Junto a las series de tiempo aparecen los índices estadísticos RMSE (raíz de error medio cuadrático) y la correlación (r). **127**
- Figura 22.** Componente u_este y v_norte de la corriente a 5 y 30 m del modelo MIKE3 (rojo) y la observación (negro) junto a sus respectivas rosas de corrientes observada (izquierda) y modelada (derecha) en isla San Pedro. Junto a las series de tiempo aparecen los índices estadísticos RMSE (raíz de error medio cuadrático) y la correlación (r). **128**



Figura 23. Componente u_{este} y v_{norte} de la corriente a 5 y 40 m del modelo MIKE3 (rojo) y la observación (negro) junto a sus respectivas rosas de corrientes observada (izquierda) y modelada (derecha) en isla Tranqui. Junto a las series de tiempo aparecen los índices estadísticos RMSE (raíz de error medio cuadrático) y la correlación (r)	129
Figura 24. Series de nivel del mar observada (línea negra) y modelada (línea roja) en sector del fiordo Comau..	130
Figura 25. Series de nivel del mar observada (línea negra) y modelada (línea roja) en sector de Hueihue.	131
Figura 26. Series de nivel del mar observada (línea negra) y modelada (línea roja) en sector de Quinchao.	132
Figura 27. Series de nivel del mar observada (línea negra) y modelada (línea roja) en sector de Palvidad.	133
Figura 28. Series de nivel del mar observada (línea negra) y modelada (línea roja) en sector de Putemún.	134
Figura 29. Constituyentes armónicas (amplitud) de la marea modelada (Rojo) y observada (negro) en estero Palvidad	135
Figura 30. Constituyentes armónicas (amplitud) de la marea modelada (Rojo) y observada (negro) en Isla Quinchao.	136
Figura 31. Constituyentes armónicas (amplitud) de la marea modelada (Rojo) y observada (negro) en Putemún-fiordo Castro	137
Figura 32. Constituyentes armónicas (amplitud) de la marea modelada (Rojo) y observada (negro) en Hueihue, bahía Manao.	138
Figura 33. Constituyentes armónicas (amplitud) de la marea modelada (Rojo) y observada (negro) en boca fiordo Comau.	139
Figura 34. Patrón de corrientes durante un periodo de sicigias en llenante (arriba) y vaciante (abajo), en el archipiélago de Chiloé, en colores se distingue el nivel del mar (m.).	140
Figura 35. Vectores promedio de corrientes superficial (arriba) y de fondo (abajo) en el archipiélago de Chiloé, en colores se distingue la magnitud del vector.	141
Figura 36. Vectores promedio de corrientes superficial (arriba) y de fondo (abajo) en pta. Chequian, en colores se distingue la magnitud del vector.	142
Figura 37. Vectores promedio de corrientes superficial (arriba) y de fondo (abajo) isla Linlin, en colores se distingue la magnitud del vector).	143
Figura 38. Área de cobertura de dispersión de fecas para una velocidad de sedimentación alta (arriba), media (centro) y baja (abajo) en sector de pta. Chequian	144



Figura 39. Área de cobertura de dispersión de fecas para una velocidad de sedimentación alta (arriba), media (centro) y baja (abajo) en sector de isla Linlin.	145
Figura 40. Área de cobertura de dispersión para una velocidad de sedimentación de alimento en pta. Chequian (arriba), isla Linlin (abajo).	146
Figura 41. Distribución espacial de Materia orgánica y cobre alrededor de un centro de cultivo en el sector de Linlin.	147
Figura 42. Pinturas anti-incrustantes utilizadas en las empresas salmoneras por ciclo productivo durante el 2014 al 2015 (X-XI_XII Región).	148
Figura 43. Pinturas anti-incrustantes base agua y base solvente utilizadas en las empresas salmoneras por ciclo productivo (X-XI-XII Región).	149
Figura 44. Pintura anti-incrustante (%) utilizada en talleres de redes, entre diciembre del 2014 a mayo del 2015, en la Región de Los Lagos	150
Figura 45. Porcentaje de pinturas en base agua y solvente utilizadas en talleres de redes.	151
Figura 46. Análisis de Cluster de acuerdo a las estaciones de muestreo, en referencia a la temperatura, pH, redox, Cu y Zn de los sedimentos muestreados en Chequian.	152
Figura 47. Esquema sinóptico de concentración de metales en las diversas matrices analizadas por campaña de muestreo. Las concentraciones de metales en sedimento, tejido y agua están en $\mu\text{g g}^{-1}$ y $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente	153



Tablas:

Tabla 1. Coordenadas geográficas de lances exploratorios (47) del sedimento.	155
Tabla 2. Coordenadas geográficas de los puntos efectivos de muestreo (16) de sedimento en centro Chequian.	156
Tabla 3a. Calibre del pellet y su respectiva velocidad de sedimentación. Fuente:EWOS.	157
Tabla 3b. Definición de rangos para distintas velocidad de sedimentación de las fecas de salmón	157
Tabla 3c: Tasa de acumulación máxima (con de material para cada sitio y para velocidades de sedimentación distinta.	157
Tabla 3d: Detalles anclajes de ADCP para evaluación modelo hidrodinámico	158
Tabla 4. Número de ejemplares de <i>Mytilus chilensis</i> adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ion Zn^{+2} [] disuelto a partir de ZnO.	159
Tabla 5. Mortalidad e inhibición de la adherencia al sustrato de <i>M. chilensis</i> expuesto a ZnO en un rango amplio de concentraciones nominales.	160
Tabla 6. Efecto del Zn en la germinación de la espora de <i>M. Pyrifera</i> . Recuento de esporas con germinación normal (N) o anormal (A). Concentración nominal del ion Zn^{2+} () y cuantificada analíticamente disuelto en el agua de mar [].	161
Tabla 7. Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a ZnO. El asterisco indica significancia estadística.	162
Tabla 8. Número de ejemplares adultos de <i>Mytilus chilensis</i> muertos al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ion Cu^{+2} [] disuelto a partir de $CuSO_4$ y del ion Zn^{2+} a partir de concentraciones nominales () $ZnSO_4$.	163
Tabla 9. Número de ejemplares juveniles de <i>Mytilus chilensis</i> muertos al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales NOEC de Zn^{2+} y Cu^{+2} y a concentraciones NOEC individual del ion Cu^{+2} [] disuelto a partir de $CuSO_4$ y a concentraciones NOEC individual del ion Zn^{2+} a partir de concentraciones nominales () $ZnSO_4$.	164
Tabla 10. Número de ejemplares adultos de <i>Mytilus chilensis</i> adheridos al envase mediante fibras de biso al ser expuestos simultáneamente por 7 días a concentraciones nominales	165



NOEC de Zn^{2+} y Cu^{+2} y a concentraciones NOEC individual del ion Cu^{+2} y del ion Zn^{2+} .

- Tabla 11.** Número de ejemplares juveniles y adultos de *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ion Zn^{+2} [] disuelto a partir de $ZnSO_4$. **166**
- Tabla 12.** Número de ejemplares juveniles y adultos de *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ion Cu^{+2} [] disuelto a partir de $CuSO_4$. **167**
- Tabla 13.** Número de ejemplares juveniles de *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras de biso al ser expuestos simultáneamente por 7 días a concentraciones nominales NOEC de Zn^{2+} y Cu^{+2} y a concentraciones NOEC individual del ion Cu^{+2} y del ion Zn^{2+} . **168**
- Tabla 14.** Efecto del Zn en la germinación de la espora de *M. Pyrifera*. Recuento de esporas germinadas por sección de área del porta objeto. Concentración nominal del ion Zn^{2+} () y cuantificada analíticamente como Zn^{2+} disuelto en el agua de mar [] a partir de $ZnSO_4$. **169**
- Tabla 15.** Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a $ZnSO_4$. El asterisco indica significancia estadística. **170**
- Tabla 16.** Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a $CuSO_4$. El asterisco indica significancia estadística. **171**
- Tabla 17.** Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a $CuSO_4 + ZnSO_4$. El asterisco indica significancia estadística. **172**
- Tabla 18.** Parámetros físico-químicos y biológicos medidos en el sedimento del centro Chequian durante el primer muestreo en septiembre del 2015. **173**
- Tabla 19.** Análisis granulométrico del sedimento en estaciones del centro Chequian, de las 2 campañas realizadas. Se presentan los valores promedio en porcentaje para cada fracción. Los valores en negrita de la campaña de invierno, agrupan valores sobre $1000 \mu m$. **174**
- Tabla 20.** Concentración de Cu y Zn, promedios y desviación estándar, en sedimentos muestreados en septiembre del 2015 en el centro Chequian. **175**
- Tabla 21.** Concentración de Cu y Zn en muestras de agua asociadas al muestreo de septiembre del 2015 del centro Chequian. **177**
- Tabla 22.** Concentraciones de Cu y Zn en tejidos blandos de *Mytilus* **178**



chilensis y *Macrocystis pyrifera* asociados al centro Chequian durante el primer muestreo (Limite de detección de 0,14 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Cu y 0,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Zn)..

Tabla 23. Detalles anclajes de ADCP para evaluación modelo hidrodinámico.	180
Tabla 24. Índices estadísticos de comparación de nivel del mar observado y modelado.	181
Tabla 25. Empresas salmoneras operando en la Región de Los Lagos en 2015.	182
Tabla 26. Talleres de servicio de impregnación de redes que operan en la Región de Los Lagos en 2015.	183
Tabla 27. Centros de cultivo operando en la X, XI, XII regiones durante el 2015.	184
Tabla 28. Identificación de las empresas salmoneras encuestadas que utilizan pinturas anti-incrustantes. Se indica especie de cultivo, producciones, centros operativos.	185
Tabla 29. Identificación de las empresas salmoneras encuestadas que utilizan pinturas anti-incrustantes, centros operativos, estructuras de cultivo, marca comercial de la pintura, base y factor de dilución.	186
Tabla 30. Empresas salmoneras, especie de cultivo y litros de pintura usados.	187
Tabla 31. Apreciaciones de las empresas salmoneras respecto al uso de pinturas antifouling.	188
Tabla 32. Identificación de los talleres de impregnación encuestados.	189
Tabla 33. Pintura anti-incrustantes utilizada en talleres de redes entre diciembre del 2014 a mayo del 2015, en la Región de Los Lagos.	190
Tabla 34. Talleres de impregnación encuestados. Se indica volumen y tipo de pintura utilizada, principio activo, factor de dilución, tiempo de secado, rendimiento, porcentaje de humedad, entre otros.	191
Tabla 35. Apreciaciones de los talleres de impregnación respecto al uso de pinturas antifouling.	193
Tabla 36. Pintura anti-incrustantes utilizada en talleres de redes entre diciembre del 2014 a mayo del 2015, en la Región de Los Lagos.	194
Tabla 37. Pinturas antiincrustantes utilizadas por las empresas salmoneras por ciclo productivo durante el 2014 al 2015 (X- XI- XII Región).	195



Tabla 38. Consumo de pinturas por red. Fuente IFOP 2012.	196
Tabla 39. Marca de pintura y concentración de cobre y zinc. Fuente IFOP 2012.	197
Tabla 40: Concentración de Cu y Zn en pinturas de redes impregnadas con pinturas anti-incrustantes.	198
Tabla 41: Acumulación de cobre y zinc en tejidos de choritos en relación a la concentración en el agua de los bioensayos	199



ÍNDICE DE ANEXO

Anexo Encuestas tipo a empresas salmoneras y talleres de servicio de impregnación.

Informes Bioensayos.

Informes CETECSAL segunda campaña
Informe pérdida correntómetro CETECSAL



1. RESUMEN EJECUTIVO

Al igual que la industria naviera, desde sus inicios la acuicultura ha presentado una gran problemática con la adherencia de fouling o incrustación biológica en las estructuras de cultivo (redes de cultivo y redes loberas), por lo que para disminuir su efecto se han formulado pinturas anti-incrustantes cuyo principio activo se basa en el uso de uno o más biocidas, generalmente algún compuesto de cobre (Cu), tóxico para las fases tempranas de los organismos que componen el fouling (Dafforn *et al.*, 2011).

Por otra parte, diversos estudios demuestran que los organismos marinos varían en su acumulación y tolerancia al Cu y zinc (Zn), debido en parte a las vías de captación y asimilación. No obstante, la toxicidad de los metales en estos organismos también se ve influenciada por factores bióticos como la edad, el sexo y el tamaño del organismo afectado (Sneddon & Tremblay, 2011).

Debido a que una alta concentración de metales es generalmente asociada a sedimentos finos, aquellos organismos que se alimentan de partículas en suspensión enfrentan un mayor grado de riesgo que las especies pelágicas y las que viven adheridas al sustrato rocoso.

De acuerdo a los antecedentes anteriores y con la finalidad de que sea un aporte al conocimiento y a la toma de decisiones, la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura cree necesario conocer los efectos de las pinturas anti-incrustantes utilizadas en la actividad acuícola sobre las comunidades bentónicas del medio marino, para lo cual se han llevado a cabo gestiones con la empresa de cultivo de salmónidos Marine Harvest para poder utilizar uno de sus centros de cultivo como punto de muestreo y evaluar de este modo, como las pinturas anti-incrustantes afectan los sedimentos, columna de agua y organismos bentónicos como *M. chilensis* y *M. pyrifera*, el primero de los cuales presenta una alta abundancia de cultivos en la Región de



Los Lagos de Chile y que cohabita junto a concesiones de salmónidos y el segundo es un alga que puede ser utilizado como biorremediador en ambientes alterados. Los muestreos nos indican valores de Cu en la columna de agua durante el muestreo de invierno de aprox $40 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que durante la campaña de verano alcanzo valores de aprox. $4 \mu\text{g L}^{-1}$, sedimentos en ambas campañas tienen valores de 2.9 a $6.7 \mu\text{g g}^{-1}$ de Cu, mientras que *M. chilensis* posee en sus tejidos blandos un promedio aprox. de entre 0.5 y $13 \mu\text{g g}^{-1}$. *M. pyrifera* posee en sus tejidos concentraciones promedio aprox. de Cu que van de 0.9 a $5.6 \mu\text{g L}^{-1}$.

Paralelo a esto se realizaron bioensayos de toxicidad en el “Laboratorio de Bioensayos” de la Universidad de Concepción, donde se evalúa el comportamiento (adhesión del bisco en chorito y longitud del tubo de germinación en huiro y LOEC) y la letalidad (CL50) con diferentes concentraciones de Cu y Zn (y combinación de ambos) en los 2 organismos bentónicos anteriormente nombrados. Los resultados nos muestran que para choritos adultos el $\text{NOEC}_{\text{Cu}} = 8.8 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{LOEC}_{\text{Cu}} = 34.8 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{NOEC}_{\text{Zn}} = 22.9 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{LOEC}_{\text{Zn}} = 37.5 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que para choritos juveniles nos encontramos con $\text{NOEC}_{\text{Cu}} = 19.1 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{LOEC}_{\text{Cu}} = 35 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{NOEC}_{\text{Zn}} = 599 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{LOEC}_{\text{Zn}} = 1252 \mu\text{g L}^{-1}$. La mortalidad (Cu) en Choritos adultos medida como $\text{CL50}_{\text{Cu-7días}}$ fue de $154 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que en juveniles fue de $390 \mu\text{g L}^{-1}$. El $\text{CL50}_{\text{Zn-7días}}$ para choritos adultos fue de $590 \mu\text{g L}^{-1}$ y para juveniles $7790 \mu\text{g L}^{-1}$. El efecto combinado de ambos metales sugiere sinergia (disminuye el NOEC tanto en juveniles como adultos). Para Huiro nos encontramos que los resultados obtenidos para NOEC y LOEC del Cu en la germinación de esporas no hay efecto hasta concentraciones de $10180 \mu\text{g L}^{-1}$. Algo similar ocurre para el Zn donde no hay efecto registrado hasta los $18200 \mu\text{g L}^{-1}$. Diferente es el caso del largo del tubo de germinación donde el $\text{NOEC}_{\text{Cu}} = 11 \mu\text{g L}^{-1}$ y el $\text{LOEC}_{\text{Cu}} = 19 \mu\text{g L}^{-1}$. Para el Zn el $\text{NOEC}_{\text{Zn}} = 599 \mu\text{g L}^{-1}$ y el $\text{LOEC}_{\text{Zn}} = 1252 \mu\text{g L}^{-1}$. El esporofito se desarrolla normalmente hasta que la concentración de Cu en el agua es de $35 \mu\text{g L}^{-1}$ (a los 34



días), mientras que para el Zn es hasta que alcanza los $560 \mu\text{g L}^{-1}$ (40 días).

Como una forma de determinar cuánto Cu y Zn es aportado al medio ambiente asociado a la salmonicultura, se realizaron encuestas tanto a salmonicultores como a talleres de redes en referencia a que tipo, dilución y cantidades de pintura se están utilizando en la impregnación de redes, lo que finalmente nos entregó un balance o modelo de la cantidad de metal aportado por este tipo de actividad, encontrándose un aporte al medio ambiente a nivel nacional por ciclo productivo de 64 Tons aprox. de Cu por cada 18 meses. Complementando esto se realizó un experimento de lixiviación de redes in situ donde se evaluó el porcentaje real de un tipo de pintura que se agrega al medio marino debido al uso de anti-incrustantes en las redes salmonicultoras, encontrándose que se aporta con $4.99 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre por litro de pintura.

Finalmente se han desarrollado modelos de dispersión de partículas que acoplados a modelos anteriores desarrollados por IFOP, que nos pueden mostrar qué forma se depositan las partículas de Cu y Zn en las zonas estudiadas tanto en la primera parte de este proyecto (realizada en 2012) como en esta ocasión. Se evaluó un ambiente de baja energía como LinLin y un sitio de alta energía como es Chequian. Las distancias y dirección de la dispersión de las partículas simuladas nos indican que ambientes de alta energía de Chequian puede alcanzar hasta 25 Km de dispersión dirección Este, dependiendo de la velocidad de sedimentación partículas. Se hace presente que es un modelo de dispersión de partículas y no de sedimentación, por lo que no es posible determinar mediante este modelo cuanto material sedimenta en el área de influencia del centro de cultivo, ni cuál es la concentración de cobre en la columna de agua.

1. EXECUTIVE SUMMARY

Like the shipping industry, from the beginning aquaculture has presented a great problem with the adherence of fouling or biological encrustation in the culture



structures (cultivation nets and loberas nets), reason why to diminish its effect have been formulated antifouling paints, whose active ingredient is based on the use of one or more biocides, usually some copper compound (Cu), toxic to the early phases of fouling organisms (Dafforn et al., 2011).

On the other hand, several studies show that marine organisms vary in their accumulation and tolerance to Cu and zinc (Zn), due in part to the pathways of uptake and assimilation. However, the toxicity of metals in these organisms is also influenced by biotic factors such as age, sex and size of the affected organism (Sneddon & Tremblay, 2011).

Because a high concentration of metals is generally associated with fine sediments, those organisms that feed on suspended particles, face a greater degree of risk than pelagic species and those that live attached to the rocky substrate.

According to previous antecedents and in order to be a contribution to knowledge and decision-making, the Subsecretaria de Pesca y Acuicultura believes it is necessary to know the effects of the anti-fouling paints used in aquaculture activity on the benthic communities of the Marine environment, for which efforts have been made with the aquaculture company Marine Harvest to use one of its salmon farming as a sampling point and thus evaluate how antifouling paints affect sediment, water column and benthic organisms such as *M. chilensis* and *M. pyrifera*, the first of which presents a high abundance of crops in Los Lagos region, Chile, and cohabiting with salmonids concessions, and the second is an algae that can be used as a bioremediate in altered environments. Sampling indicates Cu values in the water column during the winter sampling of approximately 40 $\mu\text{g L}^{-1}$, while during the summer season it reached values of approx. 4 $\mu\text{g L}^{-1}$, sediments in both campaigns have values from 2.9 to 6.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cu, while *M. chilensis* has an average of about Between 0.5 and 13 $\mu\text{g g}^{-1}$. *M. pyrifera* has in its tissues average



concentrations approx. of Cu ranging from 0.9 to 5.6 $\mu\text{g L}^{-1}$.

In parallel to this, toxicity bioassays were carried out in the "Laboratorio de bioensayos" of the University of Concepción, where the behavior (adhesion of the biso in chorito and length of the germination tube in huiro and LOEC) and the lethality (LC50) with Different concentrations of Cu and Zn (and combination of both) in the two previously named benthic organisms. The results show that for adult chorites $\text{NOEC}_{\text{Cu}} = 8.8 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{LOEC}_{\text{Cu}} = 34.8 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{NOEC}_{\text{Zn}} = 22.9 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{LOEC}_{\text{Zn}} = 37.5 \mu\text{g L}^{-1}$, whereas for juvenile chorites we find $\text{NOEC}_{\text{Cu}} = 19.1 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{LOEC}_{\text{Cu}} = 35 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{NOEC}_{\text{Zn}} = 599 \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{LOEC}_{\text{Zn}} = 1252 \mu\text{g L}^{-1}$. Mortality (Cu) in adult chorites measured as $\text{LC50}_{\text{Cu-7 days}}$ was $154 \mu\text{g L}^{-1}$, while in juveniles it was $390 \mu\text{g L}^{-1}$. The $\text{CL50}_{\text{Zn-7 days}}$ for adult chorites was $590 \mu\text{g L}^{-1}$ and for juveniles $7790 \mu\text{g L}^{-1}$. The combined effect of both metals suggests synergy (decreases NOEC in both juveniles and adults). For Huiro we find that the results obtained for NOEC and LOEC of Cu in spore germination have no effect until concentrations of $10180 \mu\text{g L}^{-1}$. Something similar happens for the Zn where there is no effect registered until the $18200 \mu\text{g L}^{-1}$. Different is the case of the length of the germination tube where the $\text{NOEC}_{\text{Cu}} = 11 \mu\text{g L}^{-1}$ and the $\text{LOEC}_{\text{Cu}} = 19 \mu\text{g L}^{-1}$. For Zn the $\text{NOEC}_{\text{Zn}} = 599 \mu\text{g L}^{-1}$ and the $\text{LOEC}_{\text{Zn}} = 1252 \mu\text{g L}^{-1}$. The sporophyte normally develops until the concentration of Cu in water is $35 \mu\text{g L}^{-1}$ (at 34 days), whereas for Zn it is up to $560 \mu\text{g L}^{-1}$ (40 days).

As a way of determining how much Cu and Zn is contributed to the environment associated with salmon farming, surveys were conducted both on salmon farmers and on network workshops in reference to which type, dilution and quantities of paint are being used in the impregnation of nets, Which finally gave us a balance or model of the amount of metal contributed by this type of activity, finding a contribution to the environment at the national level per productive cycle of 64 Tons approx. of Cu for every 18 months. Complementing this, a leaching experiment was carried out in situ where the actual percentage of a type of paint added to the marine environment



was evaluated due to the use of antifouling in the salmoniculture networks, being found that it is supplied with $4.99 \mu\text{g L}^{-1}$ copper per liter of paint.

Finally, we have developed particle dispersion models coupled to previous models developed by IFOP, which can show us how Cu and Zn particles are deposited in the areas studied in both the first part of this project (carried out in 2012) and On this occasion. We evaluated a low energy environment such as LinLin and a high energy site such as Chequian. The distances and direction of the dispersion of the simulated particles indicate that high energy environments of the checker can reach up to 25 km of dispersion east direction, depending on the velocity of sedimentation particles. It is shown that it is a model of dispersion of particles and not of sedimentation, so it is not possible to determine by this model how much sediment material in the area of influence of the culture center, nor what is the concentration of copper in the column of Water.



2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Evaluar y determinar los efectos de las pinturas anti-incrustantes utilizadas por la acuicultura, en las comunidades bentónicas del medio marino en la Región de Los Lagos.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Determinar mediante bioensayos, los efectos de las pinturas anti-incrustantes provenientes de la acuicultura, sobre las comunidades bentónicas del medio marino, considerando especialmente aquellos efectos que modifiquen el comportamiento y afecten el crecimiento de los organismos, junto con establecer los compuestos que resultan más tóxicos de estas pinturas para la biota marina.

2.2.2 Determinar la concentración de componentes anti-incrustantes, tanto en sedimentos como en especies representativas de las comunidades bentónicas submareales de cada sector de estudio.

2.2.3 Determinar mediante un modelo de dispersión, la acumulación y la dispersión espacial de los productos anti-incrustantes presentes en las pinturas antifouling.



- 2.2.4** Cuantificar el aporte de los compuestos anti-incrustantes al medio ambiente marino, medido en las redes de cultivo utilizadas identificando la concentración inicial y final.
- 2.2.5** Realizar un análisis integrado de los resultados obtenidos, que permitan clarificar la existencia de impactos por los componentes de pinturas anti-incrustantes en la biota acuática y en la calidad de los sedimentos marinos.



3. ANTECEDENTES

Las pinturas anti-incrustantes o antifouling, fueron diseñadas para ser utilizadas mayoritariamente en el ámbito de la navegación, para impedir que pequeños crustáceos y algas se adhieran a los cascos de los buques, evitando con esto que aumente la resistencia del buque y por consiguiente incrementen los costos en combustible (Dafforn *et al.*, 2011). En la actualidad, las tecnologías anti-incrustantes de las pinturas utilizadas para cubrir las necesidades en acuicultura, han sido derivadas desde los avances alcanzados en las pinturas aplicadas para proteger los cascos de las embarcaciones en transporte marítimo y que tiene sus comienzos entre los siglos XVIII y XIX (Dafforn *et al.*, 2011). Producto de esto, existe una amplia fuente bibliográfica en revistas científicas generales como “Marine Pollution Bulletin”, “Environmental Pollution”, “Aquaculture”, “Journal of Coastal Development”, entre otras. Así como, en revistas científicas más especializadas en la temática como “Biofouling”, “Progress in Organic Coatings” y “Applied Organometallic Chemistry”.

Conscientes de la necesidad de la industria naviera, la cual necesitaba mejores pinturas antifouling, la industria química elaboró pinturas anti-incrustantes eficaces y económicas utilizando compuestos metálicos, en particular, el compuesto de órgano-estaño conocido como tributilestaño (TBT) (Dafforn *et al.*, 2011). No obstante, este compuesto fue prohibido en algunos países en la década de los ochenta debido a su reconocida toxicidad (Konstantinou & Albanis, 2004), aunque sólo hasta el año 2008, la Organización Marina Internacional (OMI) decretó su prohibición total. Tanto es así, que estudios demuestran que los compuestos organoestañosos persisten en el agua y sedimentos, y ello produce la destrucción de otros organismos marinos además de los que se fijan a los cascos de los buques. En particular, se demostró que la contaminación por TBT produce cambio de sexo



(Imposex) (Fent, 1996).

Cabe aclarar que las pinturas anti-incrustantes utilizadas en embarcaciones marítimas no se pueden aplicar directamente en la industria de la acuicultura porque están específicamente diseñadas para trabajar en una superficie dura, existiendo una clara división dentro de las empresas que venden pinturas anti-incrustantes, incluso con marcas distintas. Las pinturas anti-incrustantes utilizadas en acuicultura se basan típicamente en una emulsión cerosa (“waxy emulsión”) que les proporciona la flexibilidad que se requiere en las redes (Braithwaite *et al.*, 2007).

Desde sus inicios, la acuicultura ha presentado el problema de la adherencia de fouling o incrustación biológica en las estructuras de cultivo (redes de cultivo y redes loberas), lo que ocasiona, entre otros problemas, un aumento del área sólida de la red, provocando una disminución en el flujo de agua que pasa a través de esta, con la consecuente disminución de oxígeno disponible para los peces en cultivo. Además puede actuar como reservorio de patógenos, aumenta el peso de la red, cabos, boyas, entre otros componentes del sistema, lo que hace que éste pierda la flotabilidad y cambien las condiciones técnicas de fondeo con que fue diseñado (Yebera *et al.*, 2004; Braithwaite *et al.*, 2007, Guardiola *et al.*, 2012).

La acuicultura en general y la industria del salmón en particular sufren significativamente de los efectos de la adherencia de incrustaciones biológicas o “fouling” en instalaciones de cultivo sumergidas, especialmente en redes de balsas-jaulas y loberas. La composición, abundancia y estacionalidad del “fouling” dependen de factores oceanográficos tales como temperatura del agua, salinidad, luminosidad, mareas y turbidez, entre otros (Lovegrove, 1979). El “fouling” está constituido principalmente por algas y animales que colonizan las instalaciones de cultivo en sus primeras etapas de vida o estadios larvales, junto con otros colonizadores como bacterias y microalgas, y que posteriormente forman comunidades que comienzan a desarrollarse, incrementando su peso y talla (Yebera



et al., 2004; Guardiola *et al.*, 2012). Estudios indican que los principales componentes del fouling corresponden a *Chordata- Ascidiaceae* (e.g., *Ciona intestinalis* y *Ascidella aspersa*), *Turbellaria-Polycladida* (e.g., *Stylochus* spp.), *Annelida-Polychaeta* (e.g., *Polydora* spp.), *Algae* (e.g., *Antithamnion* sp, *Ectocarpus* spp. y *Ulva* sp), *Porifera* (e.g., *Cliona* spp), *Mollusca-Bivalvia* (e.g., *Mytilus edulis* y *Crassostrea* spp.) y *Cnidaria-Hidrozoa* (e.g., *Ectopleura crocea* y *E. larynx*) (Fitridge *et al.*, 2012).

El principio activo de las pinturas anti-incrustantes se basa en el uso de uno o más biocidas, tóxicos para las fases tempranas de los organismos que componen el “fouling”, ya que los individuos adultos son mucho más resistentes a estos productos (Dafforn *et al.*, 2011). Además del compuesto activo, las pinturas anti-incrustantes están constituidas por un cuerpo aglutinante o matriz, solventes y compuestos auxiliares. En cuanto a la matriz de las pinturas se han descrito al menos cuatro: matriz soluble (“soluble matrix”), lixiviación de contacto (“contact leaching”), co-polímero de autopulido (“self polishing copolymer o SFC”) y “foul release” (Lewis, 1998, Dafforn *et al.*, 2011).

En general, el objetivo de la composición de las pinturas es que las cargas tóxicas del biocida se liberen lentamente por lixiviación, de manera de crear una atmósfera letal alrededor de la superficie protegida, impidiendo el asentamiento de organismos incrustantes (Lewis, 1998, Yebra *et al.*, 2004), de este modo se mantienen las redes limpias hasta por 6 meses en regiones templadas (Fitridge *et al.*, 2012). Lovegrove (1979) estimó la tasa de lixiviación del cobre de 10 a 20 $\mu\text{g cm}^{-2} \text{d}^{-1}$. Sin embargo, estudios más recientes indican valores entre 25 y 40 $\mu\text{g cm}^{-2} \text{d}^{-1}$ (Brooks, 2000; Macleod & Eriksen, 2009).

Desde el punto de vista de la acuicultura, las principales características que debe



cumplir una pintura AF (antifouling) corresponden a:

- 1) Ser efectiva contra un amplio rango de *taxa* de “fouling”.
- 2) Ser medioambientalmente benigna.
- 3) No tener un efecto negativo en la especie objetivo (“target specie”).
- 4) No dejar residuos en la especie cultivada.
- 5) Ser económicamente viable (Fitridge *et al.*, 2012).

La gradual eliminación de formulaciones basadas en estaño, ha convertido al cobre en el principal componente biocida de muchas pinturas AF, (Omae, 2003), encontrándose en estas como óxido de cuproso (Cu_2O) (Yebra *et al.*, 2004). El zinc inorgánico es frecuentemente usado en combinación con cobre para incrementar la toxicidad global de la formulación o para facilitar el proceso de lixiviación (Watermann *et al.*, 2005). Biocidas orgánicos potenciados (en inglés “Organic booster biocides”) o co-biocidas tales como: Irgarol ®, Sea Nine 211 ®, Diclofluanida, Clorotalonil, Piritiona de Zinc, Zineb, Diuron, TCMS, entre otros, son también adheridos a la pintura para mejorar su efectividad, esto luego que especies de algas como *Enteromorpha* spp y *Ectocarpus* spp, entre otras, mostraran una marcada tolerancia fisiológica al cobre (Omae, 2003). Sin embargo, estas alternativas a la tributilina también pueden ser tóxicas en el ambiente acuático (Konstantinou & Albanis, 2003). En este sentido, varios estudios han evaluado la toxicidad de biocidas en especies no objetivo y han encontrado que la mayor parte de éstos inhiben el crecimiento de autótrofos marinos y de agua dulce (Okamura *et al.*, 2003), influyendo también en especies claves como pastos marinos (Chesworth *et al.*, 2004) y corales. Para aumentar la eficiencia de las pinturas en base a cobre, en Chile se ha propuesto el uso del polímero natural “quitosano”, el cual ayuda a una descarga más lenta del biocida (Cárdenas, 2004). Sin embargo, esta tecnología aún se encuentra a un nivel experimental-piloto.

Hoy en Chile existen 20 marcas de pinturas antifouling, todas con acción bactericida, comercializadas por 9 empresas distribuidoras. De estas 20, 12



pinturas son en base agua y 8 en base solvente, siendo el biocida más ampliamente usado el cobre, como óxido cuproso (17 pinturas) y óxido de zinc como coayudante (IFOP, 2012).

Finalmente, en un centro de cultivo de salmónidos, el cobre es constituyente tanto de las pinturas AF como del alimento suministrado a las especies cultivadas (BurrIDGE *et al.*, 2010). Según Lorentzen *et al.* (1998), las dietas comerciales para salmones en Noruega son suplementadas con cobre en concentraciones que fluctúan entre los 3,3 a 33 $\mu\text{g g}^{-1}$ de alimento, mientras que en países de Europa, las concentraciones registradas fluctúan entre 5 y 95 mg kg^{-1} de alimento.

De acuerdo a los antecedentes anteriores y con el fin de que sea un aporte al conocimiento y a la toma de decisiones, la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura cree necesario conocer los efectos de las pinturas anti-incrustantes utilizadas en la actividad acuícola sobre las comunidades bentónicas del medio marino, por lo cual solicita el presente estudio.



4. METODOLOGÍA DE TRABAJO

La metodología de trabajo se desarrollará de acuerdo a los objetivos específicos planteados en el presente manuscrito.

4.1 Metodología objetivo específico 1: *Determinar mediante bioensayos, los efectos de las pinturas anti-incrustantes provenientes de la acuicultura, sobre las comunidades bentónicas del medio marino, considerando especialmente aquellos efectos que modifiquen el comportamiento y afecten el crecimiento de los organismos, junto con establecer los compuestos que resultan más tóxicos de estas pinturas para la biota marina.*

Los bioensayos fueron realizados en el “Laboratorio de Bioensayos” de la Universidad de Concepción, por un equipo de ecotoxicólogos liderado por el Dr. Enrique Bay-Schmith B., investigador de la Universidad de Concepción, con amplia experiencia en la realización de este tipo de procedimientos (<http://www.udec.cl/bioensayos/node/7>).

Los organismos utilizados para la realización de los bioensayos son el molusco bivalvo *Mytilus chilensis* y la macroalga *Macrocystis pyrifera*, en los individuos recolectados de ambas especies se midió en una primera instancia (Informe de avance número 1) el efecto de la exposición a diferentes concentraciones de Óxido de Cuproso (Cu_2O) y Óxido de Zinc (ZnO) y a una combinación de ambos metales (1:1), dados los resultados obtenidos en los primeros bioensayos se decidió cambiar a Sulfato de Cobre (CuSO_4), Sulfato de Zinc (ZnSO_4) y a una combinación de ambas sales (1:1) esto explicado por la baja solubilidad en agua de mar de los primeros (Óxido de Cuproso y Óxido de Zinc) quedando gran parte de estos compuestos de manera insoluble o precipitado, por lo tanto no biodisponible y



además probablemente causando problemas de carácter físico con los organismos.

Mytilus chilensis, es un bivalvo filtrador común del intermareal y submareal de la Región de Los Lagos, ampliamente cultivado en concesiones de la región, ha sido ampliamente estudiado conociéndose aspectos claves de su hábitat, fisiología y ciclo de vida (Astorga *et al.*, 1998, Navarro *et al.*, 2003, Díaz *et al.*, 2011, Duarte *et al.*, 2011, Duarte *et al.*, 2014), por lo que el impacto social y económico de la contaminación por Cu y Zn puede ser relevante.

Los bioensayos realizados con *M. chilensis*, consideran el método de Zuñiga *et al.* (2003) adaptado para juveniles de *M. chilensis* (eg. dieta), previa aclimatación de los mitílicos (Zuñiga *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2007) en agua de mar filtrada a 5 µm. Las soluciones de óxido cuproso (o sulfato de cobre en su defecto), óxido de zinc (o sulfato de Zinc en su defecto) y mezcla de ambos fueron preparadas el día previo a los ensayos, determinando así las concentraciones finales, usando un factor de dilución de 0,5.

Los ejemplares de *M. chilensis* fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, octava región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).

El segundo organismo fue *Macrocystis pyrifera*, una macroalga que puede actuar como biorremediador absorbiendo Cu y Zn desde la columna de agua (Plaza *et al.*, 2011, Plaza & Viera, 2012, Plaza *et al.*, 2012), sin embargo sus estadios tempranos pueden verse afectados por la acción de estos metales (Garman *et al.*, 1994, Fitridge *et al.*, 2012).

La determinación inicial de las concentraciones de metales a utilizar en los 10



tratamientos de cada metal o mezcla de ambos se llevó a cabo por el método de ensayo-error, tomando en cuenta las concentraciones que se encuentran en el medio ambiente asociado a la salmicultura de acuerdo a literatura (entre 0 y 1500 $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco de Cu o Zn en sedimentos y/o de 0 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cu o Zn disuelto en columna de agua, Dafforn *et al.*, 2011; IFOP, 2012, Fitridge *et al.*, 2012, Vera *et al.*, 2015). Cada uno de los bioensayos de Cu, Zn o mezcla de ambos, contó con una concentración natural sin adicionar metales, que en este caso fue el control de los experimentos.

Para la formulación de las disoluciones en agua de mar, tanto de sulfato de cobre como sulfato de zinc y mezcla de ambos (1:1), se utilizaron reactivos PA (Pureza analítica) hasta alcanzar las concentraciones deseadas de los metales Cu y Zn en el agua de mar a utilizar en los bioensayos. Como forma de respaldo, previo a la realización de los experimentos se guardó una muestra de agua de mar a utilizar (tratamiento), la que posteriormente se analizó para obtener la concentración de Cu y Zn en el laboratorio “Dirección de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile” (DICTUC), de esta forma se descarta la posibilidad que el agua se encuentre contaminada previamente.

Las condiciones de realización de los bioensayos fue de ~ 14 °C y una salinidad que osciló entre 33 y 35 psu. Las condiciones de luminosidad de los experimentos fueron con luz artificial, ajustado a foto-periodo natural a la estación del año en que se realizaron las experiencias.

Los organismos a utilizar en los bioensayos pasaron por una fase de aclimatación de 1 semana previa a la realización de los experimentos, periodo durante el cual también se encontraba en otra piscina, el sustrato de tipo rocoso limpio inicialmente para los mitílidos.

Los bioensayos duraron 3 semanas (21 días aprox.) para *M. pyrifera* donde se



evaluó inhibición de la germinación de las zoosporas y 7 días para *M. chilensis*, donde se evaluó efecto letal e inhibición de la adherencia.

Detalle de la realización de bioensayos:

M. chilensis, toxicidad letal. Determinación de concentración letal 50 (CL50):

Cu - 10 tratamientos con 4 réplicas cada uno, con 5 individuos por réplica.

Zn - 10 tratamientos con 4 réplicas cada uno, con 5 individuos por réplica.

Cu + Zn (1:1) 10 tratamientos con 4 réplicas, con 5 individuos por réplica.

M. chilensis, toxicidad subletal. Determinación de NOEC y LOEC de adherencia al sustrato:

Cu - 10 tratamientos con 4 réplicas cada uno, con 5 individuos por réplica.

Zn - 10 tratamientos con 4 réplicas cada uno, con 5 individuos por réplica.

Cu + Zn (1:1) 10 tratamientos con 4 réplicas cada uno, con 5 individuos por réplica.

M. chilensis, comparación de niveles de concentración de metales en juvenil y adulto. Exposición de 7 días a una concentración equivalente al NOEC del bioensayo anterior:

Cu - 1 tratamiento con 4 réplicas de juvenil y 4 de adultos.

Zn - 1 tratamiento con 4 réplicas de juvenil y 4 de adultos.

Cu + Zn (1:1) 1 tratamiento con 4 réplicas de juvenil y 4 de adultos.

Los ejemplares de *M. chilensis* al final del bioensayo se congelaron para análisis de los respectivos metales en DICTUC mediante espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS).

La mortalidad en mitílidos, fue determinada con la abertura de las valvas y sin actividad visible. La adhesión del biso fue determinada en forma de porcentaje de individuos unidos al sustrato por el biso. Ambos parámetros fueron medidos cada 24 h por un total de 144 h. Adicionalmente se compararon niveles de concentración



de metales en juvenil y adulto de *M. chilensis* (exposición de 6 días a una concentración equivalente al NOEC del bioensayo).

Los bioensayos propuestos para *M. pyrifera* se basaron en el método descrito en Anderson & Hunt (1988) adaptado a sulfato de Cu y de Zn. Se midió el efecto individual y combinado sobre la germinación de zoosporas de *M. pyrifera* y la producción de esporofitos, el experimento duró aproximadamente 21 días (hasta un máximo de 40 días). Para estandarizar se usaron las mismas concentraciones de metales que las usadas en los bioensayos de moluscos anteriormente descritos, con igual número de tratamientos y réplicas. Las mediciones se basaron en el porcentaje de zoosporas germinadas y la cantidad esporofitos producidos a diferentes concentraciones de metales Cu y Zn.

M. pyrifera. Determinación de concentración efectiva 50 (CE50):

Cu - 10 tratamientos con 4 réplicas cada uno.

Zn - 10 tratamientos con 4 réplicas cada uno. Cu + Zn (1:1) 10 tratamientos con 4 réplicas cada uno.

Frondas reproductivas de *Macrocystis pyrifera* (huiró) se obtuvieron del submareal de caleta Tumbes, bahía de Concepción. Después de una hora de deshidratación a 14 °C se rehidrataron distribuidas en una capa sobre una rejilla que las separaba a 4 cm del fondo de una caja plástica, con 2 L de agua de mar (34 psu) agitada por burbujeo de aire por 18 h. Después de la inmersión, las frondas liberaron abundantes esporas. La evaluación del efecto del Cu²⁺ y Zn²⁺ sobre la germinación de las esporas se realizó por exposición de las zoosporas a un gradiente de concentración de sulfato de Cu y de Zn disuelto en agua de mar. Se inoculó 1 ml del agua con zoosporas en cada recipiente con 200 ml de soluciones que contenían un portaobjeto de vidrio para la adherencia de las esporas. Transcurridos 5 días desde el ingreso de las esporas se efectuó el recuento de esporas germinadas de aspecto normal y de aspecto anormal. El área de recuento fue en el



ancho del campo visual con objetivo 40 x a lo largo de 18 mm, la longitud del cubreobjetos montado sobre el portaobjetos con esporas. En algunos tratamientos el recuento se complementó con la medición de la longitud del tubo de germinación (embrión de gametofito) que desarrollan las esporas fijadas al portaobjeto, para discernir con mayor precisión el efecto de exposición al Cu y Zn.

Todas las aguas de mar a las diferentes concentraciones de metales utilizadas en los tratamientos de los bioensayos fueron enviadas para análisis por ICP-MS a DICTUC para obtener su concentración analítica (filtradas a 0.45 micras, anexo DICTUC).

4.2 Metodología objetivo específico 2: *Determinar la concentración de componentes anti-incrustantes, tanto en sedimentos como en especies representativas de las comunidades bentónicas submareales de cada sector de estudio.*

En relación a la selección del sitio de muestreo, en los centros donde se realizaron las anteriores experiencias con pinturas anti-incrustantes en el momento de la selección, no estaban operativos o habían cambiado de estrategia antifouling (lavado *in situ* y redes de polietileno pueden ser alternativas viables a la impregnación de redes). Por lo tanto, se llevaron a cabo conversaciones con la empresa de cultivo de salmónidos Marine Harvest, seleccionando el centro de cultivo Chequian en Chiloé central (Figura 1), de un total de 5 centros en prospecto, para realizar esta investigación. El jefe del centro Chequian es Patricio Pérez y el jefe de área es Ricardo Gantenbein. El centro en cuestión, según información de Fabián Ragnarson, encargado de medio ambiente de Marine Harvest, impregna con pinturas en base acuosa y tiene planificado seguir con este procedimiento en el ciclo de cultivo que se inicia. Durante la segunda semana de julio se realizó una



visita al centro para evaluar la factibilidad logística.

Para la toma de muestras de la primera campaña durante 3, 8, 9, 10 y 15 de septiembre de 2015, primero se realizaron lances de draga exploratorios (47) (Figura 2, Tabla 1) para definir los 16 puntos efectivos de muestreo de sedimento (Figura 3, Tabla 2), de los cuales 14 puntos estaba dentro de la concesión, siendo seleccionados según el tipo de sustrato (roca o sustrato blando como arena y fango) encontrado durante el muestreo, con 3 réplicas por cada punto, más 2 puntos ubicados fuera de la concesión como control (C1 y C2), también con 3 réplicas cada uno, con un total de 48 muestras a analizar por campaña (48 en otoño-invierno y 48 en primavera-verano) (Figura 3).

Las muestras de sedimentos fueron tomadas mediante dragas de 0,1 m² de mascada, a las cuales se les extrajo mediante un core de polietileno (en el cual no han intervenido en su fabricación Cu ni Zn o en su defecto se lixivió con ácido clorhídrico), aproximadamente 200 cc de sedimento que no haya estado en contacto con la parte metálica de la draga para evitar así la contaminación de la muestra. Las muestras fueron envasadas en bolsas de polietileno (en las cuales no han intervenido en su fabricación los metales Cu o Zn), rotuladas y almacenadas en bolsas herméticas, para su posterior congelamiento a -18°C. Luego las muestras fueron enviadas debidamente empaquetadas (Gel-pack, nevera y cadena de frío), para análisis de concentración de metales pesados mediante ICP-MS al laboratorio DICTUC (anexo informe DICTUC). Adicionalmente, en todas las dragas se determinarán parámetros físico-químicos (granulometría, pH, redox y temperatura) y biológico (porcentaje de materia orgánica). Paralelamente, en 4 de las estaciones se usó un CTDO para obtener perfiles de la columna de agua de temperatura (°C), oxígeno (mg L⁻¹) y salinidad (psu).

Las muestras de organismos bentónicos para análisis de concentración de metales pesados se obtuvieron mediante buzo, tanto en el caso de los mitílidos como de las



macroalgas, hasta completar 15 individuos de cada especie dentro de la concesión y 15 individuos de cada especie fuera de la concesión (a más de 500 m de distancia) como control. A las muestras se les extrajo la totalidad de los tejidos blandos y fueron congeladas a -18°C en bolsas de polietileno herméticas. Posteriormente fueron enviadas y analizadas al laboratorio DICTUC de igual forma que el sedimento, para determinar las concentraciones de Cu^{2+} y Zn^{2+} presentes en los tejidos.

Paralelamente, para comparar la concentración de metales existente en sedimentos, tejidos de organismos bentónicos y concentración de metales en la columna de agua, se tomó en cada una de las 16 estaciones propuestas del centro de cultivo de salmónidos, 2 muestras de agua, una a un metro sobre el fondo y otra a la profundidad de las jaulas (10 a 20 m de profundidad) en la columna de agua, en caso de que la profundidad no lo permitió, solo se tomó la muestra de fondo. Las muestras fueron almacenadas en frascos de polietileno (material que no incluye Cu o Zn en su fabricación). Para la mantención de las muestras de agua, estas fueron tratadas con ácido clorhídrico suprapur hasta alcanzar un pH entre 2 y 3, y posteriormente congeladas a -18°C . El análisis de concentración de metales (Cu^{2+} y Zn^{2+}) en la columna de agua, fue realizado por DICTUC (filtrado a 0.45 micras, Anexo DICTUC).

Un muestreo de similares características correspondiente a la segunda campaña de muestreo se realizó entre el 5 y 7 de febrero del 2016, en el cual se realizó mismo procedimiento anteriormente descrito para la toma y preservación de las muestras.

Para establecer diferencias significativas entre las concentraciones de metales obtenidas desde la columna de agua, sedimentos y tejidos, previa normalización de



los datos se realizaron análisis de varianza.

Una vez obtenidos los resultados de los análisis de las 2 campañas de muestreo y de forma de incluir la variable temporal en el análisis, y para ver si existe relación entre la distribución de metales pesados y la concentración de materia orgánica en los sedimentos u otra variable físico-química (o con el tipo de sedimento) de las estaciones analizadas, se realizaron Análisis de similitudes (ADONIS, Anova para datos multivariados), además de análisis de cluster, que permitirá saber cuál o cuáles de las variables físico-químicas son los más importantes en definir las relaciones de las estaciones con respecto a los metales (Carr, 1997). Estos análisis se desarrollarán íntegramente en el objetivo 5 de este trabajo.

4.3 Metodología objetivo específico 3: *Determinar mediante un modelo de dispersión, la acumulación y la dispersión espacial de los productos anti-incrustantes presentes en las pinturas antifouling.*

La forma más abundante del cobre en ambiente marino es el ion cobre hidratado $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$. El pH, salinidad y materia orgánica son los parámetros que determinan los procesos de especiación del cobre, es decir formación de otros compuestos como puede ser el caso de los complejos (quelatos orgánicos y ligando orgánicos), al respecto estudios señalan que sobre el 99% del cobre disponible disuelto ($\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$) es incorporado a este tipo de complejos, disminuyendo a su vez su toxicidad (Meseguer et al., 2004) y generando que los metales precipiten por una disminución en la solubilidad y sedimenten acumulándose en el piso oceánico (Ansari et al., 2004). Desde este punto de vista el enfoque en la modelación será de simular el transporte de partículas de cobre a través de “conductores” que sean capaces de realizar la transferencia desde la columna de agua al sedimento. Estos conductores son la materia orgánica que se encuentra disponible en las cercanías de los centros de cultivo de salmón (pellet de alimento y fecas de salmón). Cada una de estas partículas tiene un comportamiento distinto



en la columna de agua que se refleja básicamente y de acuerdo a este enfoque en un parámetro llamado velocidad de sedimentación. Estos experimentos no toman en consideración aspectos químicos de especiación del elemento ni tampoco la materia orgánica que está dispuesta de forma natural en el ambiente, estudios posteriores debiesen abordar estas temáticas.

Se propone para este experimento la utilización de un modelo de circulación acoplado a un modelo de sedimentación para generar un campo de material sedimentado en el fondo marino el cual se elaborará bajo algunos supuestos.

- No se incluyen procesos biogeoquímicos de degradación de materia orgánica ni especiación química.
- El modelo no cuantifica la cantidad de material sobre el fondo marino, sino sobre la capa vertical del modelo más próxima al fondo, generalmente el espesor de la capa de fondo del modelo alcanza un par de centímetros. Es razonable pensar que la distribución espacial del material en el fondo no tenga diferencias mayores entre los últimos centímetros de la columna y el fondo marino en periodos cortos de semanas.
- Más que cuantificar la cantidad de material que se deposite sobre el fondo se establecerán las relaciones espaciales de deposición, esto es, sobre una cantidad arbitraria de material que sedimente se evaluará su distribución espacial normalizada, de manera tal de poder comparar con observaciones discretas de materia orgánica y elementos químicos presentes en los sedimentos permitiendo estimar si el sitio tiene un comportamiento dispersivo o acumulativo asociando esto a variables como la circulación, la profundidad y la velocidad de sedimentación.

a) Sitio de estudio

Este experimento se llevó a cabo en el mar interior de Chiloé, X región de los



Lagos. El lugar en donde se implementó el experimento se encuentra ubicado en la zona central de Chiloé, al este de Isla Quinchao (punta Chequian). Se implementó un modelo hidrodinámico con una escala regional (**Figura 4**) de 1-3 km de resolución horizontal que permitiera cubrir el mar interior de Chiloé y acoplado a este un dominio de escala local (20 a 50 m) para estudiar los procesos que intervengan a escala de un centro de cultivo de salmón (**Figura 5a**). La profundidad alrededor del dicho centro de cultivo de salmón se encuentra entre 5 y 80 m. Además se incluyó un nuevo sitio con el fin de tener una comparación de los patrones de transporte desde una perspectiva espacial más amplia, con este fin se incluyó el sitio de Linlin en el archipiélago de Chiloé (**Figura 5b**).

b) Modelo de circulación 3D

El modelo implementado es MIKE 3 FM, este se basa en la solución numérica de las ecuaciones promediadas de Reynolds (Reynolds-averaged Navier-Stokes), las cuales están sujetas a hipótesis de incompresibilidad, presión hidrostática y consideran la aproximación de Boussinesq. Así, el modelo consiste en las soluciones a ecuaciones de continuidad, momentum, transporte de temperatura y sal. La superficie libre se tiene en cuenta el uso de coordenadas sigma. La discretización espacial de las ecuaciones primitivas se realiza utilizando un método de volúmenes finitos centrados en la celda. Las ecuaciones y detalles de cómo se resuelve desde el punto de vista matemático el sistema pueden verse en el documento científico del sistema de modelación (DHI, 2014). Este modelo utiliza una malla desestructurada, que permite un óptimo grado de flexibilidad en la representación de topografías complejas, como la línea de costa del sistema de canales y fiordos del sur de Chile. Elementos pequeños pueden ser utilizados en áreas donde se desea más detalle, y elementos más grandes utiliza cuando se necesita menos detalle, optimizando la información para un adecuado tiempo de cómputo. El modelo regional implementado ya ha sido utilizado en otros proyectos con adecuadas evaluaciones respecto de su



desempeño contra observaciones.

c) Evaluación modelo hidrodinámico.

Esta evaluación es necesaria realizarla con los datos de correntimetría obtenidos como parte de este proyecto, sin embargo, la primera de estas mediciones arrojó datos sobre los cuales cabía una duda razonable acerca de su calidad, razón por cual, se realizó un segundo intento con el fin de despejar aquellas dudas, lamentablemente el equipo (ADCP) no fue encontrado en el lugar donde fue anclado, perdiéndose esa fuente de datos. Dada esta situación se procedió a incluir las evaluaciones del modelo hidrodinámico realizadas en otros sitios pero en distintos periodos de manera tal de que pueda evaluarse al menos la consistencia del modelo.

Además de lo expuesto anteriormente se procedió en el mes de abril a instalar nuevamente un perfilador acústico en los alrededores del centro de cultivo en estudio (73.4051 W 42.5862 S). El equipo instalado es un ADCP RDI de 300 kHz, anclado a 60 metros, en cuya estructura se adosó un sensor de presión y temperatura RBR. A los datos se les pasó un control de calidad para eliminar valores escapados y fueron rotados a su eje de máxima varianza. Para extraer los residuales se utilizó un filtro coseno Lanczos con un poder medio de 40 horas, mientras que para calcular la distribución de la energía en el dominio de la frecuencia se utilizó el método de Welch, 1968, con el cual se generó espectros de energía de la corriente barotrópica con 10 grados de libertad.

Cuando el resultado de la predicción es una estimación del valor de una variable continua, la calidad se mide con relativa facilidad mediante medidas de precisión (funciones de error) y de habilidad. Estas funciones son medidas globales de precisión, en el sentido de que solo consideran la distribución conjunta, calculando la distancia entre los datos previstos y los observados. Por lo tanto,



resultan mejor representados los eventos frecuentes. Se utilizarán las siguientes medidas estadísticas para realizar una evaluación del comportamiento del modelo hidrodinámico

▪ Error Medio Cuadrático (RMSE)

Es una medida cuadrática que mide la media de la magnitud del error, no muestra la dirección de las desviaciones.

$$\sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2}$$

En donde,

x = dato observado y = dato simulado n = número de datos.

▪ Error medio cuadrático normalizado: forma no-dimensional del RMSE, está normalizado al rango de datos observados.

$$NRMSE = \frac{RMSE}{X_{obs,max} - X_{obs,min}}$$

▪ Coefficiente de Correlación

Es una medida estadística que trata de medir la relación entre dos variables, oscila entre -1 y 1, siendo el signo, la dirección de la relación (proporcional o inversamente proporcional) y la cifra, la magnitud de la relación.

$$R = \frac{Cov_{xy}}{S_x S_y}$$

Cov_{xy} = covarianza entre el modelo y la observación, S_x = desviación estándar del modelo

S_y = desviación estándar de la observación.

d) Modelo de sedimentación de material.



Acoplado al modelo hidrodinámico en alta resolución en Chiloé, se acoplará un modelo de transporte de partículas, considerando advección y dispersión con una velocidad de sedimentación de dichas partículas. La caracterización del tipo de partícula que aquí se simula es la materia orgánica que sedimenta desde las balsas jaulas asociadas a la salmonicultura (alimento y fecas de salmón) como conductor de elementos químicos, específicamente del cobre. No se pretende realizar una cuantificación de la materia orgánica, sino solo cual es el área de influencia del centro de cultivo, asimilando dicha partícula a la característica de la materia orgánica específicamente en cuanto a su velocidad de sedimentación.

Para la determinación de la velocidad de sedimentación del alimento se realizó una búsqueda bibliográfica y consulta a proveedores de alimentos de salmón en Chile que para cada caso tienen cuantificada dicha velocidad. **La Tabla 3a** muestra para cada tipo de calibre de alimento, que velocidad de sedimentación (hundimiento) tiene asociado con un rango que va desde los 0.088 cm/s hasta los 0.156 cm/s. Se utilizará la distribución completa de velocidades de manera tal que al momento de liberar las partículas las velocidades de sedimentación se alternen en toda esta distribución, de esta manera se obtiene una visión más completa del tipo de alimento que efectivamente es utilizado durante todo el ciclo productivo del salmón .

Para el caso de fecas de salmón, la información fue obtenida del estudio de Bannister 2016, para cuyo caso realizaron experimentos para determinación de velocidad de sedimentación de fecas de salmón atlántico en laboratorio (**Figura 3**). Basado en este estudio, se utilizarán por tanto, 3 rangos de velocidad de sedimentación que cubren para el primer caso aproximadamente entre 60 a 65 % de material orgánico con velocidades que van de 5 a 10 cm/s. Para el caso de rangos medios y bajos, en ambos casos con porcentajes alrededor del 20 % las velocidades de 2.5 a 5 cm/s y de 0.5 a 2.5 cm/s respectivamente (**Tabla 3b**). Para cada uno de los rangos serán utilizadas un set de velocidades entre cada uno de



los límites de manera de que para cada experimento la velocidad no sea constante, sino que cubra la proporción completa de cada rango. Este enfoque es diferente respecto a la utilización de una velocidad constante visto en otros estudios (Cromey et al., 2002a; Weise et al., 2009; Keeley et al., 2013). Para todos los sitios e independiente del rango, la emisión desde cada jaula de los centros de cultivo es una misma cantidad, es decir el flujo de materia es el mismo para todos, de esta forma se hacen comparables los montos.

Finalmente, se determinará la tasa de acumulación de material para cada sitio y para cada experimento de velocidad de sedimentación (**Tabla 3c**). Para esto se extraerán series de tiempo en aquellos lugares en donde se encuentren los valores máximos de concentración. Los valores totales de concentración para cada experimento serán divididos por el número de días de simulación de manera de tener un valor normalizado y comparable entre sitios.

4.4 Metodología objetivo específico 4: *Cuantificar el aporte de los compuestos anti-incrustantes al medio ambiente marino, medido en las redes de cultivo utilizadas identificando la concentración inicial y final.*

Se realizó un modelo matemático para obtener un balance de los litros de pintura utilizados por la industria impregnadora de redes y salmonicultora, para determinar el aporte de productos anti-incrustantes al medio ambiente marino, partiendo de la base del uso de estos químicos a nivel de red impregnada y centro de cultivo, llegando a un cálculo nacional de los litros de pintura utilizados por ciclo productivo. Se consideraron variables específicas de la actividad de impregnación como el tipo de pinturas utilizadas, concentración de principios activos de cada marca, cantidad de pinturas utilizadas para la impregnación por ciclo productivo, para redes peceras y loberas y tiempo de secado de la pintura, entre otros aspectos.

Para determinar el estado del arte respecto a las pinturas anti-incrustantes



utilizadas por la industria, se efectuaron encuestas a las empresas salmoneras y talleres de impregnación (incluidos ATARED). Las encuestas aplicadas fueron semi-estructuradas (Anexo 1) y fue aplicada *in situ*, contactando directamente a los encuestados, representados principalmente por gerentes, jefes y asistentes de centros de cultivo y talleres de redes. El diseño fue transversal (medición en un sólo periodo) y descriptivo (caracterización del estado situación del uso de los anti-incrustantes). Con esta información se confeccionaron tablas que contienen el número de empresas, tipo de anti-incrustante utilizado, volumen, principio activo del compuesto principal, dosis de impregnación, número de recambios de redes por ciclo productivo, entre otros.

Para ajustar, validar o desestimar el modelo se realizó una prueba de campo. Este ensayo se realizó a partir septiembre de 2015. Para esto se pusieron en el agua 10 trozos de redes impregnadas con la misma pintura que la ocupada en la empresa, junto con las redes propias del centro y al momento de hacer el cambio de redes, estas se retiraron entre el 17 y 20 febrero de 2016, para medir el diferencial de Cu y Zn en la pintura de las mallas antes y después de estar en el agua en un ciclo de cambio de redes. Cabe señalar que solo se pudieron retirar 5 trozos de red debido a manejos de la empresa.

Complementariamente se llevó a cabo una caracterización detallada del centro, incluido el número de jaulas, ubicación geográfica, así como las características de aplicación de anti-incrustantes usada durante el muestreo.

4.5 Metodología objetivo específico 5: *Realizar un análisis integrado de los resultados obtenidos, que permitan clarificar la existencia de impactos por los componentes de pinturas anti-incrustantes en la biota acuática y en la calidad de los sedimentos marinos.*

Para realizar este objetivo se evaluaron en conjunto los resultados de los 4 primeros



objetivos específicos: bioensayos, para ver cómo y cuánto afectan los compuestos anti-incrustantes a los organismos bentónicos adyacentes a las zonas de cultivo de salmónidos, presencia y magnitud (concentración) de compuestos anti-incrustantes en sedimentos, tejidos y agua, como, cuando y donde se depositan estos anti-incrustantes en los sedimentos asociados a las balsas-jaulas y finalmente cuánta pintura anti-incrustante y sus principios activos es vertida al medio ambiente acuático.

Esta integración incluye análisis bioestadísticos de comparación de medias (ANOVA) análisis no paramétrico de Wilcoxon para medidas repetidas, análisis multivariados como Cluster y ADONIS todas herramientas que en su conjunto nos pueden dar luz sobre el “cómo, cuándo, cuánto y dónde” influyen las pinturas anti-incrustantes y sus compuestos activos en los ecosistemas sensibles del sur de Chile.



5. RESULTADOS

5.1 Resultados Objetivo específico 1: *Determinar mediante bioensayos, los efectos de las pinturas anti-incrustantes provenientes de la acuicultura, sobre las comunidades bentónicas del medio marino, considerando especialmente aquellos efectos que modifiquen el comportamiento y afecten el crecimiento de los organismos, junto con establecer los compuestos que resultan más tóxicos de estas pinturas para la biota marina.*

Bioensayo de *Mytilus chilensis* y ZnO

Los resultados del primer bioensayo crónico de *M. chilensis* expuesto a un gradiente de concentración de óxido de zinc se presenta en la Tabla 4, donde se observa que la adherencia de *M. chilensis* mediante las fibras del biso fue normal en el agua control, con un 100 % de adherencia. En todas las concentraciones de Zn se presentó mortalidad, aunque la tendencia de este parámetro es poco clara respecto a una relación lineal directamente proporcional con la concentración nominal del metal ($R^2= 0,04$). La adherencia de *M. chilensis* sobreviviente al concluir los 7 días de exposición es notoriamente afectada por el Zn, pero dada la alta mortalidad obtenida en esta prueba no es apropiado inferir conclusiones referentes a la respuesta subletal del molusco, por lo que se prefirió repetir el bioensayo.

La solubilidad del óxido de zinc es baja en agua de mar. La determinación cuantitativa del zinc disuelto en los distintos tratamientos de este bioensayo se muestra en la Tabla 4. Independiente de la cantidad de ZnO usada en el gradiente de concentración de este producto, la concentración de zinc disuelto fue homogénea en los distintos tratamientos con un rango de 2,7 a 3,3 mg L⁻¹ analítica (saturación del agua con el óxido). Las diluciones seriadas con un factor de 0,5 se mantenían en agitación al tomar el volumen de una concentración para mezclarlo con el mismo volumen de agua de mar, de modo que todos los tratamientos llevan una cantidad proporcional de polvo de ZnO en suspensión, entregando la



determinación analítica la máxima solubilidad del ZnO en el agua de mar, la cual por el residuo de polvo en todos los tratamientos, es la concentración de Zn^{2+} en condiciones de saturación. Las dos concentraciones más bajas, tienen aproximadamente la mitad de los ejemplares fijados, mientras que de la tercera hacia arriba no hay fijación a pesar que la concentración de ion Zn^{2+} no difiere entre los tratamientos. Probablemente en incremento en la cantidad de polvo de ZnO precipitado en los envases con concentración nominal igual y superior a $6,26 \text{ mg L}^{-1}$ nominal, afecta físicamente a los choritos impidiendo la adherencia entre ellos o al envase.

Considerando los resultados de un bioensayo preliminar diseñado en un rango de concentraciones más amplio (Tabla 5) se puede anticipar que 1 mg L^{-1} de ZnO no causa mortalidad ni afecta adherencia, 10 mg L^{-1} no es letal pero afecta la adhesión del 60 % de *M. chilensis* y con 100 mg L^{-1} ninguno pudo fijarse. Con 1000 mg L^{-1} del compuesto todos los *M. chilensis* murieron. Al igual que en caso anterior el precipitado de ZnO pudo afectar la respuesta observada. Rangos intermedios de las concentraciones no fueron realizados ya que se trató de un experimento para establecer rangos de concentración usables en los bioensayos.

Bioensayo de *Macrocystis pyrifera* y ZnO

El resultado del bioensayo crónico exponiendo las esporas a distintas concentraciones de zinc se presenta en la Tabla 6. Se distinguió una forma normal de germinación, con un tubo de germinación transparente y el gametofito en su extremo muestra claramente los cloroplastos verde-amarillentos (Figura 7 y 8), respecto de otra anormal, carente de tubo de germinación o en algunos casos espora germinada pero algo descolorida, azul-verdosa (Figura 9).

Ninguna de las concentraciones de zinc evaluadas inhibió completamente la germinación (Tabla 6). Las germinaciones anormales comienzan a registrarse desde la concentración nominal $0,783 \text{ mg L}^{-1}$ de Zn^{2+} pero no son significativamente



superiores al control hasta $3,13 \text{ mg L}^{-1}$ de Zn^{2+} . La proporción de anormales se estabiliza en las concentraciones superiores entre 13,7 y 31,7 % para subir a 53,9 % en la última concentración de $401,7 \text{ mg L}^{-1}$ nominales de Zn. La concentración nominal más baja $0,386 \text{ mg L}^{-1}$ no presenta anomalías, sin embargo concentración de ion disuelto que tiene es similar a las soluciones nominales superiores de Zn^{2+} .

El contraste de las concentraciones nominales de Zn^{2+} respecto a las cuantificadas analíticamente (Tabla 6), ocurre de igual forma que en el caso del bioensayo de *M. chilensis*, donde se alcanza el punto de saturación del agua de mar en referencia al Zn^{2+} . El aumento de las concentraciones nominales no se refleja en un incremento proporcional de anomalías en la germinación (Tabla 6). El efecto de aumento de la anomalía parece deberse al precipitado de ZnO, que puede afectar físicamente a las zoosporas.

Si bien la proporción de esporas anormales de germinación no se diferencia significativamente del control y las concentraciones nominales más bajas de Zn^{2+} , se pudo apreciar en el examen del microscopio que la longitud del tubo de germinación disminuye con el incremento de la concentración.

La longitud promedio del tubo de germinación del control ($13,7 \text{ }\mu\text{m}$) es estadísticamente distinta de la longitud lograda en los tratamientos con ZnO (Test student, $p < 0,001$). A partir de la menor concentración nominal evaluada ($0,386 \text{ mg L}^{-1}$ de Zn) se observa una tendencia al acortamiento del tubo de germinación. La condición extrema, sin detección visual de esta estructura, está cuantificada en la Tabla 7 como porcentaje de germinaciones anormales de cada tratamiento.

Bioensayo de *Mytilus chilensis* (CuSO_4^+ , ZnSO_4^+ y $\text{CuSO}_4^+ + \text{ZnSO}_4^+$)

Los resultados del primer bioensayo crónico de *M. chilensis* expuesto a un gradiente de concentración de sulfato de Zinc y sulfato de Cobre se presentan en



la Tabla 8 y 9. Para el bioensayo de toxicidad aguda en que la respuesta medida fue la mortalidad, los resultados para juveniles y adultos en agua control fue de 0 y 10% respectivamente, valores considerados aceptables para bioensayos con esta especie. Para los ejemplares adultos existió un 70% de mortalidad al ser expuesto a la combinación de las sales de Cu + Zn (Tabla 8), porcentaje significativamente más alto que lo obtenido en el control, los resultados evidencian que las sales combinadas en sus respectivas concentraciones NOEC resulta ser significativamente más letal que el compuesto con sólo el NOEC del Cu en cambio no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la combinación de metales al compararla con la mortalidad obtenida de la solución con sólo Zn (35%), la cual fue un poco más alta que la reportada en el agua control. De acuerdo a esto el $CL_{50-7d\ Cu}$ fue de $154\ \mu\text{g L}^{-1}$ (analítico) y $CL_{50-7d\ Zn}$ fue de $590\ \mu\text{g L}^{-1}$ (analítico).

Con respecto a los organismos juveniles la exposición a los metales combinados tuvo un efecto letal intenso con 85% de muertos (Tabla 9). Este valor es estadísticamente diferente a las mortalidades registradas en las soluciones individuales de Zn y Cu. La solución NOEC de Zn individual mostró un efecto letal (50%) significativamente superior a la mortalidad control, no así la solución individual de Cu que no se diferencia estadísticamente del resultado control. Ante una sensibilidad un poco mayor a lo normal en juveniles, la respuesta letal surgiría primero a la exposición de Zn^{2+} y no necesariamente en la solución de Cu^{2+} . De acuerdo a esto $CL_{50-7d\ Cu\ juveniles} = 407\ \mu\text{g L}^{-1}$ nominal (entre $284-510\ \mu\text{g L}^{-1}$ analítico) y $CL_{50-7d\ Zn\ juveniles} = 7790\ \mu\text{g L}^{-1}$ nominal (entre $1252- 4879\ \mu\text{g L}^{-1}$ analítico)

En base a los resultados reportados para el bioensayo de toxicidad aguda, donde la mortalidad es la respuesta medida, podríamos inferir que la exposición a iones de Zn^{2+} y Cu^{2+} manifiesta un efecto sinérgico sobre los organismos adultos con un 70% de mortalidad y sobre organismos juveniles con un 85% de muertos, esto se evidencia porque los niveles citados de mortalidad se producen al combinar iones



que en concentraciones individuales (NOEC) no presentan efecto letal.

Finalmente las respuesta registradas en estos bioensayos pudieran estar influenciadas por el hecho que siendo una especie de mitílido del sur del país, adquirido en Chiloé y mantenido en sistema suspendido en Bahía Coliumo hasta su uso experimental, su condición fisiológica no haya sido la óptima dadas las condiciones oceanográficas las cuales este año se caracterizaron por un fuerte evento El Niño.

Con respecto al bioensayo de toxicidad crónica en adultos y juveniles donde la respuesta medida fue la adherencia al sustrato se observa que la adherencia de *M. chilensis* adultos y juveniles mediante las fibras del biso fue normal en el agua control, con un 100 % de adherencia (Tabla 10, 11, 12 y 13). En adultos expuestos a la combinación de Zn^{2+} y Cu^{2+} sólo logran fijarse un 16,7% de los ejemplares, una diferencia estadísticamente significativa al comparar con el resultado de fijación en el agua control (Tabla 10). En cuanto al efecto o sensibilidad de fijación de los adultos a la exposición a los metales por separado y a sus respectivas concentraciones NOEC generó mayor adherencia (69 y 75%) que lo expuesto para las sales combinadas (Tabla 10), pero menor adherencia que lo reportado en los primeros bioensayos realizados con ZnO y CuO (90 a 100%). A pesar de los resultados de fijación en la solución de sales combinadas (16,7%), esta no es significativamente diferente a la adherencia en las soluciones NOEC individuales de ambos metales, por lo que para organismos adultos no se puede concluir que la combinación de Zn^{2+} y Cu^{2+} sea considerablemente más tóxica que los iones metálicos individuales.

Los resultados bioensayos crónicos en adultos de choritos nos muestran:

$NOEC_{Cu \text{ adultos}} = 79 \text{ ug L}^{-1}$ nominal (18 ug L^{-1} analítico), $LOEC_{Cu \text{ adultos}} = 159 \text{ ug L}^{-1}$ nominal (34.8 ug L^{-1} analítico).

$NOEC_{Zn \text{ adultos}} = 1060 \text{ ug L}^{-1}$ nominal (22.9 ug L^{-1} analítico), $LOEC_{Zn \text{ adultos}} = 2130 \text{ ug}$



L⁻¹ nominal (37.5 ug L⁻¹ analítico).

En los juveniles la diferencia en el porcentaje de individuos fijados entre el control (100%) e iones combinados (0%) es contundente (Tabla 11, 12 y 13). La adherencia en las soluciones individuales a concentración NOEC fue de 90% en Zn y de 94,7% en Cu de modo que se puede afirmar que los iones metálicos combinados ejercen un efecto sinérgico significativo inhibiendo la adherencia de los juveniles respecto al efecto de esos metales por separado (Tabla 13).

Los resultados bioensayos crónicos en juveniles de choritos nos muestran:

NOEC_{Cu juveniles} = 79 ug L⁻¹ nominal (19 ug L⁻¹ analítico), LOEC_{Cu juveniles} = 159 ug L⁻¹ nominal (35 ug L⁻¹ analítico).

NOEC_{Zn juveniles} = 1130 ug L⁻¹ (599 ug L⁻¹ analítico), LOEC_{Zn juveniles} = 2270 ug L⁻¹ (1252 ug L⁻¹ analítico).

Bioensayo de *Macrocystis pyrifera* (CuSO₄⁺, ZnSO₄⁺ y CuSO₄⁺+ ZnSO₄⁺)

El resultado del bioensayo crónico exponiendo las esporas a distintas concentraciones de ZnSO₄⁺ no tuvo efecto inhibitor estadísticamente significativo sobre la germinación de esporas, esto hasta una concentración de 18 mg L⁻¹ al aumentar la concentración del compuesto de Zinc a 36,4 mg L⁻¹ la germinación disminuyó a un 37% de lo registrado en el control (Tabla 14). Por lo que las concentraciones NOEC y LOEC corresponden a 18,2 y 36,4 mg L⁻¹ nominal respectivamente (NOEC_{Zn} = 20316 ug L⁻¹ y LOEC_{Zn} = 40000 ug L⁻¹, analítico).

Al analizar los resultados del ensayo crónico con respecto a la longitud del tubo de germinación se encontró un efecto inhibitor de la elongación en función del incremento de la concentración del ión Zinc en el agua (Tabla 15). La longitud promedio del tubo de germinación en el agua control fue de 13,9 µm resultado que es estadísticamente distinta a la longitud registrada en los tratamientos con Zn²⁺ a partir de 2,27 mg L⁻¹ de ión. Cabe destacar que el largo del tubo de germinación



se reduce gradualmente con el incremento de la concentración nominal del ión Zinc alcanzando el NOEC_{Zn} a $1,13 \text{ mg L}^{-1}$ ($599 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ analítico) y LOEC_{Zn} a $2,27 \text{ mg L}^{-1}$ ($1252 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ analítico).

En cuanto a los resultados del bioensayo crónico exponiendo las esporas a un rango de concentraciones del ión cobre entre $0,038$ y $10,18 \text{ mg L}^{-1}$ (nominal) no evidenció algún efecto inhibitorio en la tasa de germinación. Sin embargo el tubo de germinación se observó progresivamente más corto con el incremento de la concentración de cobre (Tabla 16).

La determinación de la concentración de cobre que no presenta diferencias significativas en la longitud del tubo con respecto a las medidas de agua control (Valor NOEC_{Cu}) fue de $0,038 \text{ mg L}^{-1}$ nominal ($11,2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu analítico), el valor LOEC_{Cu} fue definido en $0,079 \text{ mg L}^{-1}$ nominal ($19 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu analítico) las concentraciones superiores a esta inducen a un progresivo acortamiento del tubo de germinación, estadísticamente significativo ($p < 0,05$) respecto al control. Los resultados del ensayo indican que a partir de concentraciones analíticas de $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ los cloroplastos del gametofito pierden su color o se torna prácticamente incoloro.

El efecto de la exposición al ión cobre sobre el desarrollo del esporofito se controló 34 días después de la germinación de las esporas, el desarrollo de esporofitos se observó hasta la concentración nominal de $0,159 \text{ mg L}^{-1}$ ($35 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ cuantificado analíticamente).

En el caso del bioensayo realizado con la mezcla de las sales de ZnSO_{4+} y CuSO_{4+} se estimó que la longitud promedio del tubo de germinación en el agua control fue de $14,0 \text{ } \mu\text{m}$ valor que es estadísticamente distinta a la longitud registrada en los tratamientos con metales combinados considerando sus NOEC individuales (Tabla 17). Se determinó evaluar a la mitad de las concentraciones NOEC individuales de



ambos iones (0,56 Zn + 0,019 Cu) evidenciado también una longitud registrada estadísticamente distinta al promedio del agua control. La solución de sales combinada utilizando la concentración NOEC individual generó un acortamiento del tubo de germinación con una longitud promedio de 10,7 μm , es decir un 23% más corto que el promedio registrado en el agua control.

El bioensayo que evalúa efecto de contaminantes disueltos en el agua sobre la germinación de esporas de algas pardas es de corta duración, tres días, periodo en el cual esporas que originarán gametofitos femeninos o masculinos no se diferencian visualmente y el tubo de germinación no alcanza a más unos pocos micrones de longitud, exactamente igual en aspecto y tamaño en ambos tipos de espora. La diferencia se manifiesta más tarde por lo que el bioensayo se detiene antes de que eso ocurra. La similitud de la etapa inicial de la germinación de las esporas de ambos sexos permite usar el conjunto de ellas sin necesidad de identificarlas.

5.2 Resultados Objetivo específico 2: *Determinar la concentración de componentes anti-incrustantes, tanto en sedimentos como en especies representativas de las comunidades bentónicas submareales de cada sector de estudio.*

Los resultados de los parámetros fisicoquímicos y biológicos de los sedimentos en las estaciones seleccionadas se muestran en la Tabla 18. La temperatura en invierno tuvo un promedio de 9,4°C, mientras que en verano fue de 13,7°C. La media del pH en invierno fue de 7,4 y en verano fue de 7,48, mientras que la media del potencial redox en invierno fue de 78,5 y en verano fue de 224. Por último la materia orgánica durante el invierno tuvo un promedio de 0,23% y en verano 1,12%.

En relación al análisis granulométrico, la mayoría de las estaciones en estudio mostraron estar compuestas principalmente por las fracciones más gruesas del



sedimento ($> 250 \mu\text{m}$), teniendo una menor composición de arenas fina ($250 - 63 \mu\text{m}$) y fango ($< 63 \mu\text{m}$) (Tabla 19), excepto las estaciones 2 y C2 que tienen mayor porcentaje de arena fina.

Los perfiles de salinidad fueron homogéneos en la columna de agua en todas las estaciones muestreadas (Figura 10 y 11), un comportamiento similar se observó en invierno en los perfiles de temperatura, con valores que oscilaron entre $10,27$ a $10,37 \text{ }^\circ\text{C}$, en tanto el oxígeno en las estaciones 2, 3 y 11 presentaron variabilidad en los primeros metros de la columna de agua, mientras que la estación 1 se observó una mayor variabilidad en la columna de agua (hasta $\sim 25 \text{ m}$) (Figura 10). En verano se muestra que los perfiles de temperatura y oxígeno disminuyen con la profundidad aprox. de 16 a $12 \text{ }^\circ\text{C}$, y el oxígeno de aprox. 13 a 7 mg L^{-1} en todas las estaciones muestreadas, estando relacionadas estas 2 variables (Figura 11).

Metales en sedimento y agua

Los resultados en cuanto a la concentración de Cu y Zn en sedimentos asociados al centro Chequian nos muestran rangos de $3,32$ a $13,36 \mu\text{g g}^{-1}$ de Cu y de $4,49$ a $19,15 \mu\text{g g}^{-1}$ de Zn durante la campaña de invierno, mientras que durante la campaña de verano los valores fueron de $1,59$ a $25,38 \mu\text{g g}^{-1}$ de Cu y $5,34$ a $51,31 \mu\text{g g}^{-1}$ de Zn (Tabla 20).

Las concentraciones de cobre y zinc en el agua en las estaciones asociadas al muestreo del centro Chequian van desde $27,62$ a $49,71 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu en invierno y de $2,44$ a $4,59 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu en el muestreo de verano. El Zn varía desde $0,39$ a $2,66 \mu\text{g L}^{-1}$ Zn en invierno y $3,06$ a $7,27 \mu\text{g L}^{-1}$ Zn en verano. (Tabla 21).

Metales en M. chilensis y M. pyrifera

Finalmente los resultados de los análisis de concentraciones de Cu y Zn en *M. chilensis* y *M. pyrifera* en condiciones cercanas al centro de cultivo y en los controles, durante invierno, se muestran en la Tabla 22 donde se aprecia un rango



de Cu para *M. chilensis* dentro de la concesión que va de 1,0 a 118,7 $\mu\text{g g}^{-1}$, mientras que fuera de la concesión (control) para el mismo organismo el rango va de 0,94 a 9,8 $\mu\text{g g}^{-1}$. Para algas dentro de concesión el rango de Cu va de 0,17 a 39,12 $\mu\text{g g}^{-1}$ y para *M. pyrifera* fuera de la concesión el rango de Cu va desde 0,19 a 2,79 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Durante el verano se aprecia un rango de Cu para *M. chilensis* dentro de la concesión que va de 0,15 a 1,15 $\mu\text{g g}^{-1}$, mientras que fuera de la concesión para el mismo organismo el rango va de 0,54 a 1,37 $\mu\text{g g}^{-1}$. Para algas dentro de concesión el rango de Cu va de 0,24 a 2,15 $\mu\text{g g}^{-1}$ y para *M. pyrifera* fuera de la concesión el rango de Cu va desde 0,73 a 1,11 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Los resultados de los análisis de Zn para la biota en invierno, muestran que el rango va de 1,25 a 11,42 $\mu\text{g g}^{-1}$ para *M. chilensis* dentro de la concesión, mientras que para *M. chilensis* fuera de la concesión el rango va de 1,3 a 21,11 $\mu\text{g g}^{-1}$. Algas dentro de la concesión tienen un rango de concentración de Zn que va de 0,86 a 2,83 $\mu\text{g g}^{-1}$ y fuera de la concesión el rango va de 0,88 a 4,43 $\mu\text{g g}^{-1}$ de sedimento (Tabla 22).

Los análisis de Zn para la biota en verano, muestran que el rango va de 3,92 a 15,64 $\mu\text{g g}^{-1}$ para *M. chilensis* dentro de la concesión, mientras que para *M. chilensis* fuera de la concesión el rango va de 2,94 a 27,34 $\mu\text{g g}^{-1}$. Algas dentro de la concesión tienen un rango de concentración de Zn que va de 3,72 a 40,43 $\mu\text{g g}^{-1}$ y fuera de la concesión el rango va de 2,19 a 9,24 $\mu\text{g g}^{-1}$ de sedimento (Tabla 22).

5.3 Resultados Objetivo específico 3: *Determinar mediante un modelo de dispersión, la acumulación y la dispersión espacial de los productos anti-incrustantes presentes en las pinturas antifouling.*

Correntometría: A través de la **Figura 12** podemos observar la distribución de los



flujos residuales para las componentes u y v de la corriente. En ella distinguimos un flujo residual débil, fuertemente influenciado por eventos superficiales que generan cierta inestabilidad. Si bien se distinguen al menos dos capas una superficial entre 0 y 20 metros y otra bajo los 20 m, la capa superficial no exhibe alguna tendencia, siendo altamente fluctuante. Mientras que la capa más profunda se muestra más estable. Alrededor del 8 de mayo se presenta un evento en toda la columna, volviéndola altamente inestable el cual es coincidente con la sicigia observada, la segunda sicigia observada, es más débil en términos de amplitud, sin embargo se presenta asociado una variabilidad en la columna más superficial. Por su parte los promedios verticales de ambas componentes reflejan una estructura vertical altamente dominada por la marea, con flujos residuales bastante débiles, que permiten la influencia de forzantes de baja frecuencia, como el viento o de flujos gravitatorios.

Distribución de la energía

Los espectros de energía de las componentes ortogonales (ver **Figura 13**) de la corriente presentan un máximo absoluto en la frecuencia de M2, lo cual es esperable, debido al carácter mareal de la corriente observada. Sin embargo se desprende que las componentes diurnas de la marea no son significativas, en contraste con la componente M4 (6.21 horas), la cual se presenta como la constituyente que más energía aporta al sistema después de la M2. La M4 es una constituyente de aguas someras, la cual nace de la interacción de constituyentes armónicos de menor frecuencia con efectos locales producidos por la configuración batimétrica y topográfica de la zona, lo que permite desarrollar un mecanismo de transferencia de energía hacia las altas frecuencias, rasgo observado anteriormente en la zona.

La **Figura 14** presenta el espectro del nivel del mar. Este presenta valores de densidad espectral menores a la corriente, y define claramente los 2 máximos las corrientes tipo semidiurno (~12h) y diurno (~24h). Sin embargo notar el desarrollo



de diversos máximos relativos, correspondientes a los constituyentes armónicos de aguas someras, donde destacan M4 (6.21h), M6 (4.14h) y M8 (3.10h), lo cual permite corroborar la capacidad del sistema de transferir energía a frecuencias mayores.

Lo observado sugiere la presencia de una zona donde la estructura temporal y vertical de la corriente está altamente influenciada por la marea, espacialmente en sicigia, dando lugar a residuales débiles ($<5 \text{ cm s}^{-1}$), los cuales quedan expuesto a la influencia de forzantes externos a la marea, tales como el viento, ondas internas y flujos gravitatorios entre otros.

Evaluación modelo hidrodinámico:

Se realizó una simulación del modelo hidrodinámico para las mismas fechas en que se ancló en ADCP en el sector de Chequian, entre abril y mayo de 2016, los resultados muestran que el modelo reproduce de manera correcta la estructura de la corriente en el sector con correlaciones altas en ambas componentes de la corriente en toda la columna de agua (**Figura 15 y 16**). Estas correlaciones alcanzan valores desde los 0.6 a los 0.83 con una media de 0.74, mientras que los errores normalizados están en el rango de 12 % a 21 % con una media de 15.4 %. Esto indica que modelo resuelve de manera adecuada la hidrodinámica del sector, más aun, reproduce el patrón de mayor frecuencia e intensidad de la dirección de la corriente que muestra un flujo dominante hacia el este, como lo muestran las rosas de corrientes a 10 y 40m (**Figura 17**). La rosa de la corriente observada muestra que el eje de la corriente se alinea de acuerdo a la línea de costa (oeste-este) y mayormente se desplaza hacia el este, el modelo es capaz de reproducir, incluso en magnitud este patrón de circulación del sector, esto implica básicamente que las partículas que se encuentren en la columna de agua en este lugar tenderán a moverse hacia el este.

Para complementar la evaluación del modelo hidrodinámico en la zona de



estudio, se ha incluido verificaciones del desempeño del modelo otros sectores del mar de Chiloé en lugares distintos y en distintas fechas (**Figura 18, Tabla 3d**). Son desplegados resultados de series de tiempo superficiales y de fondo (del anclaje de ADCP), contrastados con series modeladas, indicando en cada caso la raíz del error cuadrático medio (RMSE [m/s]) y normalizado NRMSE (%) además de la correlación (r). También se presentan rosas de corrientes para indicar la dirección predominante del flujo y los intervalos de magnitud. La mayor parte de las series tienen una longitud de 10 a 20 días, si bien es cierto, es deseable un mayor tiempo de comparación, no se pudo lograr ya que la mayor parte de los anclajes se encuentra en épocas muy distintas, por tanto, se debió realizar simulaciones para cada uno de los periodos de despliegue de ADCPs. De igual modo, son presentadas las evaluaciones de las constituyentes armónicas de la marea observada contrastándola con las modelaciones con MIKE3.

Las **figuras 19 a la 23** muestran las series de datos observadas y modeladas, cabe señalar que los valores de correlación en general están sobre 0.5 y la mayor parte de los casos sobre 0.8. Mientras que los errores normalizados (NMRSE) en general se encuentran bajo el 20%.

Las mareas, especialmente en el mar de Chiloé, representa la forzante más importante de la corriente en la escala diaria, que para fines de este estudio es lo más relevante. Esta razón hace importante evaluar la capacidad del modelo hidrodinámica de reproducir de manera correcta sus patrones. Las **figuras 24 a la 28** muestran series de nivel del mar observado y modelado, siendo la correlación entre estas en la mayor parte de 0.99 y alcanzando un error normalizado en general bajo al 5%. Las **figuras 26 a 33** muestran la comparación por componente armónica de cada serie de datos, en estas se muestra claramente que la señal de marea es dominada largamente por la componente lunar M2 de periodo de 12 horas, seguida por las componente S2 y N2, todas semidiurnas, posteriormente son seguidas de las componentes diurnas K1 y O1. Cabe señalar que el modelo es consistente en



distinguir cada una de estas distintas señales armónicas en magnitud como en orden.

Circulación en archipiélago de Chiloé.

La circulación en los canales del archipiélago de Chiloé se encuentra dominada en la escala diaria por la propagación de la onda de marea desde el océano, provocando cambios en la dirección de las corrientes con una periodicidad dominante de aproximadamente 12 horas, es decir, en ese periodo es posible tener una pleamar y una bajamar. Así en la escala diaria, se obtienen corrientes de flujo (llenante) y refluo (vaciante) como se muestra en la **Figura 34**.

En la escala submareal, es decir, la que guarda relación con el transporte neto (filtrada la señal de marea), se obtienen patrones distintivos respecto de la magnitud y dirección de las corrientes, tanto a nivel superficial como en el fondo (**Figura 35**). Con respecto a la magnitud, se aprecia altamente variable, distinguiéndose zonas que exceden los 25 cm/s, como canales principales y zonas de estrechamiento topográfico. De la misma forma es posible apreciar zonas donde las magnitudes medias son inferiores a 5 cm/s con formación recurrentes de remolinos que podrían estar actuando como zonas de retención o sumidero de material, estas estructuras podrían tener un importante impacto en la acumulación de residuos de la acuicultura.

La circulación con mayor detalle en los sitios de estudio, muestran en el caso de pta. Chequian (**Figura 36**), un patrón de salida (hacia el este) con un incremento en la magnitud en la intersección con el canal principal lo que ofrece a los centros de cultivos ubicados pta. Chequian una importante vía de dispersión, con líneas de corriente hacia el norte pero también hacia el sur. En el fondo no se aprecian cambios sustantivos respecto de la circulación de superficie. Esta intersección es



una de las zonas más energéticas del mar de Chiloé.

En el sector de Isla Linlin (**Figura 37**) las magnitudes en el entorno de los centro de cultivo son inferiores a lo indicado para pta. Chequian, en superficie existe un patrón predominante hacia el sur-este, sin embargo en el fondo es posible ver un cambio importante en cuanto a su dirección generando un patrón de mayor variabilidad, incluso hacia el noroeste inmediatamente por encima del centro de cultivo, las magnitudes son inferiores a los 5 cm/s.

Áreas de influencia de cada sitio

Se presentan en primer lugar las dispersiones asociadas a fecas de salmón, con distintas velocidades de sedimentación. En pta. Chequian (**Figura 38**) se observa que para la velocidad máxima de sedimentación (rango alto) se genera un área predominantemente hacia el este que puede cubrir una área máxima de 1.3 km. Al disminuir la velocidad al rango medio se observa un área de cobertura mucho más amplia alcanzando una área de influencia de alrededor de 5 km. Finalmente, para la velocidades más bajas, la cobertura tiene una extensión de alrededor de 25 km. Todo esto relacionado al fuerte impacto que producen las corrientes en aquel sector que logran distribuir a grandes distancias el material pero con una concentración muy baja.

Para el sector de isla Linlin (**Figura 39**) ubicada en un sector menos energético que Chequian, se observa que para el caso de velocidades altas y medias la distribución afecta solamente el entorno inmediato del centro de cultivo (alrededor de 400 m), siendo sus concentraciones levemente superiores a los estimados en Pta. Chequian, ya para el caso de velocidades bajas se observa un desplazamiento más importante hacia el noroeste, siendo explicado esto por las corrientes de las capas inferiores que tienen esa dirección, alcanzando una cobertura de alrededor de 3 km.

Para el caso de la dispersión de alimento (**Figura 40**), en general, se observa que



para los 2 sitios la dispersión es menor que para las fecas, homologándose a las velocidades altas de sedimentación de fecas ya que sus valores son similares, teniendo influencia solo en el campo cercano.

En términos cuantitativos, el sector de Linlin tiene una tasa de acumulación aproximadamente de 3 veces al lugar de Chequian (**Tabla 3c**), esto se deriva de los valores de sedimentación en cada uno de los sitios, esta diferencia es sostenida en cada uno de experimentos para distintas velocidades de sedimentación. Los números indicados en la Tabla 3c no deben ser interpretados en términos de que estas cantidades representen la realidad, ya que como se indicó anteriormente, estos experimentos buscan conocer la diferencias entre distintos sitios ante una cantidad de material liberado que es arbitrario, no basado en información real, por tanto, lo importante aquí no es la cantidad per se, sino más bien, la diferencia de esa cantidad arbitraria entre cada sitio.

Finalmente, la evaluación cualitativa espacial de cobre o materia orgánica en sitio de Chequian, no fue posible de completar, esto debido a que el muestreo en este sitio, por las características del lugar, no permitió contar con datos distribuidos espacialmente que permitiría contar con información en al menos cada lado de los centro de cultivo (**Figuras 2 y 3**), esto imposibilita interpolar este conjunto de datos para tener una visión espacial general. Sin embargo, para corroborar a grandes rasgos si los supuestos de que el cobre sigue un patrón de distribución similar a la materia orgánica, se incluye la información del sitio de Linlin realizado el año 2012 (**Figura 41**), en estas es posible verificar el hecho de que la distribución espacial entre el cobre y la materia orgánica presenta similares características.



5.4 Resultados Objetivo específico 4: *Cuantificar el aporte de los compuestos anti-incrustantes al medio ambiente marino, medido en las redes de cultivo utilizadas identificando la concentración inicial y final.*

Caracterización del centro:

De acuerdo a una encuesta realizada al jefe de centro Chequian de Marine Harvest, ubicado en la isla Quinchao, la concesión consta de 25,87 hectáreas y el tipo de fondo es blando. El centro Chequian cuenta con dos módulos de cultivo, Módulo 100 y Módulo 200. La profundidad del centro en el Módulo 100 (cercano a tierra) es entre 50 - 60 m, y la profundidad del Módulo 200 (más alejado a tierra) es entre 80 - 90 m.

El centro Chequian lleva operando de forma continua desde el 2013, los módulos no se han movido desde el inicio de las actividades, pero comenzaron a impregnar redes desde hace 2 ciclos, pero con diferentes pinturas en ambos ciclos. Durante este tiempo se ha utilizado el mismo sistema de distribución de sus redes impregnadas, el cual consiste en 16 redes sin pinturas y 8 con pinturas. En el Módulo 100 todas las redes loberas son usadas con pinturas, y solo las redes peceras 103, 109, 110, 111, 112 son impregnadas con pintura. En tanto en el Módulo 200 las redes loberas utilizadas son sin pinturas, y las redes peceras 201, 202 y 203 son impregnadas con pintura. El lavado de las redes sin pintura se realiza *in situ*. Las pinturas usadas son principalmente en base a agua, impregnadas por la empresa ACEREDES, ubicada en Curaco de Vélez. Las redes tienen una tasa de recambio de 3 meses en verano y de 5 a 6 meses en invierno para redes con pinturas, en tanto para redes sin pintura cada 2 meses en verano y 4 meses en invierno.

La fecha del último descanso sanitario fue por 3 meses, de agosto a octubre del 2014. El ingreso de redes loberas se realizó de fines de noviembre a principio de diciembre del 2014, para un recambio en agosto o septiembre del 2015, y las redes



peceras fueron caladas entre el 16 y 30 diciembre del 2014, para un recambio hecho en marzo - abril del 2015.

La primera ventana de siembra fue del 22 al 23 de marzo del 2015. La segunda ventana de siembra fue de 3 jaulas con pintura. Se sembraron 1.044.660 peces de *Salmon salar* y a la fecha de la encuesta (diciembre 2015) quedan 916.000. El primer ingreso de peces fue de 137 gr en promedio y el segundo ingreso de 149 gr en promedio. La cosecha se realizó en febrero del 2016 (con ~11 meses de cultivo).

En referencia al tipo de pintura que usan en la impregnación de redes, utilizan dos marcas de pintura, Flexabat en base agua y Sherwin Williams en base solvente (usando en las redes loberas), pero usualmente utilizan en base a agua. El porcentaje de dilución lo define ACEREDES y Marine Harvest define la pintura. En esta ocasión Sherwin Williams 100 % agua, 8 % cobre peso seco.

Mercado de las pinturas anti-incrustantes

Se han recabado antecedentes sobre la cantidad de empresas involucradas en la impregnación de redes, tanto de las empresas salmoneras como de los talleres de redes (ATARED incluida). Existen 22 empresas salmoneras involucradas, de las cuales 20 impregnan sus redes y solo 2 declaran no impregnar, en ningún momento ni en ningún centro de cultivo (Tabla 25). Las 20 empresas salmoneras que impregnan sus redes reconocen que no impregnan todos sus centros de cultivo ni por ciclos completos de cultivo y solo lo hacen de acuerdo a la decisión del jefe de centro. Por otra parte, se lograron identificar 16 talleres que prestan el servicio de impregnación de redes funcionando en la Región de Los Lagos (Tabla 26).

Por otra parte, de acuerdo a información obtenida de Sernapesca, actualmente se encuentran operando 1602 centros de cultivo en la X Región, 297 en la XI Región



y 47 en la XII Región (Tabla 27).

Pinturas anti-incrustantes utilizadas en la Región de Los Lagos.

A continuación se detallan resultados obtenidos sobre tratamientos de redes, volúmenes, tipos de pinturas anti-incrustantes utilizadas, rendimientos, entre otros; obtenidos de las encuestas realizadas, tanto para las empresas productoras de salmónidos como los talleres de impregnación de redes. La información obtenida se ha sintetizado en Tablas (Tablas 28 a 35).

Empresas salmoneras

La información recopilada desde diferentes fuentes de acceso público, incluido la asociación tecnológica del salmón (INTESAL), generó un universo de 20 empresas en la Región de Los Lagos, encuestándose 12 de ellas, lo que representa un 60 % del total (Tabla 25 y 28). La información obtenida ha sido sintetizada en Tablas de la 28 a 31.

Las empresas salmoneras encuestadas utilizan pinturas de marcas comerciales Econet SB 1500, Sherwin Williams, Jgoco, Bayer, Ceresita, Steen Hansen en base agua diluidas entre un 25 y un 100 %. En tanto Renner y Sherwin Williams en base solvente. Las marcas de pinturas de mayor uso por la empresa salmoneras fueron Sherwin Williams (en base solvente), Steen Hansen (en base agua) y Bayer (en base agua) con un 38,1%, 18,72% y 17,05%, respectivamente (Tabla 29 y Figura 42).

Con respecto a las pinturas anti-incrustantes por tipo de base usada, se observa que las empresas salmoneras encuestadas, prefieren las de base agua por sobre la base solvente (Tabla 29 y Figura 43), mientras que los rendimientos en las redes peceras y/o loberas oscila entre un 0,5 a 0,7 litros por kilo de red seca (Tabla 30).

Las estrategias implementadas para mantener limpias las redes varían entre una empresa a otra pero la mayoría (9 de 11), opta por impregnar todas las redes de



sus centros de cultivo. Sin embargo, Salmones Chile e Invermar prefiere pintar solo una de ellas durante su ciclo productivo (Tabla 30). De esta forma se logra reducir los costos en un 15 % (com pers Patricio Eugenin- Salmones Chile). Sin embargo dependiendo de la cantidad de módulos que exista en un centro (uno o dos), del número de jaulas y de la especie en cultivo, los volúmenes de pintura utilizada en las redes varia. Así por ejemplo, un módulo con 10 jaulas consume 500 L y su respectiva lobera 900 L por cada cambio, y sí aumenta a dos módulos, se duplica el consumo de pintura (Tabla 30).

Con respecto a las apreciaciones del uso de pintura anti-incrustante señalaron que minimiza el estrés de los peces, minimiza los focos infecciosos y permite un mayor tiempo de reacción frente a la mantención de las redes, menor mano de obra, menor costo, y menor impacto al medio ambiente. Cuando se les consultó si el uso de estas pinturas afecta al medio ambiente, respondieron que desconocen el tema, señalando algunos que podría afectar, ya que se le está incorporando un agente no natural al medio ambiente, en cambio otros indicaron que no afectaría, simplemente por la baja tasa de lixiviación (Tabla 31).

Talleres de redes

La información recopilada por diferentes fuentes de acceso público, incluido la asociación de talleres de redes (ATARED), generó un universo de 16 talleres con servicio de impregnación de redes en la Región de Los Lagos, encuestándose 9 de ellos, lo que representa un 56,3 % del total (Tabla 32 y 36).

Los talleres de redes encuestados ocupan pinturas de marcas comerciales, Sherwin Williams, Bayer, Cerrillos, Ceresita, Renner, Netrex, Aquanet, Flexaber, Ecoquipsal, Jgoco, Biodec y Quipasur en base agua y solventes, no diluidas y diluidas un 10 %, 20 %, 30 %, 44 %, 50 % y 100 %. Las marcas más utilizadas (73% del total) corresponden a Sherwin Williams, Bayer, Cerrillos y Ceresita (Figura 44,



Tabla 33).

La Figura 45, muestra las pinturas anti-incrustantes por tipo de base usada, apreciándose claramente el predominio base agua (76,3 %) por sobre la base solvente (23,7%).

La Tabla 34, muestra la producción de red que impregnan los talleres con pintura, liderando Salmonet S.A, Kaweshkar Ltda y Ace Redes S.A. con valores que bordean los 350.000 m²

La técnica de impregnado es muy similar entre los talleres en cuanto a los rendimientos de la pintura en las redes peceras y/o loberas que oscila entre 0,52 a 0,7 litros por kilo de red seca, a los tiempos de secado y estilado, lo que indica una estandarización entre ellas en sus procesos (Tabla 34).

Con respecto a la tendencia de uso de pinturas indicaron que la industria está optando a utilizar las más baratas del mercado o no utilizarlas, por un tema de disminución de sus costos. Sin embargo, creen que la empresa salmonera evaluará los beneficios que genera apostando nuevamente por la impregnación. Cuando se les preguntó si el uso de estas pinturas afecta al medio ambiente, en su mayoría respondieron que no tienen la certeza de ello, pero si fuese así, probablemente el impacto es muy menor respecto a otros elementos de mayor riesgo como el alimento no consumido por los peces y el continuo lavado de redes *in situ* (Tabla 35).

Balance de Cu y Zn Aportado por pinturas al océano.

Si efectuamos un balance de la cantidad de pintura utilizada por las salmoneras y usamos también, los datos obtenidos en el primer proyecto de pinturas anti-incrustantes (IFOP 2012), nos encontramos que pese a lo señalado por las etiquetas de las pinturas que indican concentraciones de Cu de entre 8% a 12 %



peso seco, esto solo se da en contados casos y según análisis realizados en 2012 por IFOP el promedio de Cu en pinturas es de $44,26 \text{ mg L}^{-1}$ (7% Cu en peso seco aprox.) y de Zn es de $0,0923 \text{ mg L}^{-1}$ (Tablas 38 y 39), por lo que con estos datos podemos elaborar un modelo de cuánto Cu y Zn está agregándose al océano mediante el uso de pinturas anti-incrustantes en el sur de Chile. Si tenemos que el 60% de la empresa salmonera declara usar 881.945 litros de pintura por ciclo productivo (Tabla 37), tenemos que:

$$\text{Cu (mg Cu)} = \text{LPC} * \text{K} * \text{CCu}$$

Donde

Cu=Cantidad de Cu agregado al agua por ciclo productivo (mg)

LPC =Litros de pinturas usados por ciclo productivo (881.945 L)

K=1.66 factor de conversión al 100% de las empresas salmoneras

CCu= concentración Cu por litro de pintura depende del fabricante o se puede usar un promedio ($44,26 \text{ mgL}^{-1}$)

Así, tenemos que se agregan en promedio 64797910.2 mg de Cu, equivalente a 64,79 toneladas en promedio de Cu al mar debido al uso de pinturas antiincrustantes en el sur de Chile por ciclo productivo salmonero (aprox. 18



meses).

Si calculamos lo mismo para el zinc

$$\text{Zn (mg Cu)} = \text{LPC} * 1.66 * \text{CZn}$$

Donde

Zn=Cantidad de Cu agregado al agua por ciclo productivo (mg)

LPC =Litros de pinturas usados por ciclo productivo (881.945 L)

K=1.66 factor de conversión al 100% de las empresas salmoneras

CZn= concentración Cu por litro de pintura depende del fabricante o se puede usar un promedio (0,0293 mgL⁻¹).

Aquí nos encontramos con un valor de 42896 mg Zn (42,89 kg) puestos en redes y posteriormente al océano.

Por otra parte, el experimento de lixiviación de pintura anti-incrustantes en redes nos arrojó los promedios al momento de introducirlas al agua de 1.8 % (+0.41) de Cu en pintura de redes y 0.05 % (+0.03) de Zn durante la campaña de invierno, mientras que durante la campaña de verano nos encontramos con una media de 1.02% (+0.47) de Cu y 0.0008% (+0.0005) (Tabla 40).

Estos resultados nos muestran diferencias significativas entre el antes y el después de las concentraciones de Cu y Zn en redes, lixiviándose 0.79 % de Cu y 0.05% de Zn, en promedio en un periodo de 5 meses, esto equivale a 4.99 mg L⁻¹ de Cu agregado al mar. Este valor tanto en porcentaje como en mg L⁻¹, es inferior al usado en la fórmula anteriormente descrita del cálculo de Cu agregado al mar (7% = 44.26 mgL⁻¹ a 0.79% = 4.99 mgL⁻¹) obtenidos del año 2012, pero es notablemente inferior al declarado por las pinturas en sus etiquetas (Sherwin William base agua



8% Cu en este caso, pasa a 1.8% en este caso).

Por otra parte, debido a la situación excepcional vivida durante el mes de febrero 2016 en la zona del experimento referente a las floraciones algales en la zona, de los 10 trozos redes puestas en el centro para el experimento, solo se pudieron recuperar debido al manejo apresurado del centro de cultivo, 5 trozos, cerrando finalmente el centro abruptamente a mediados del mes de febrero 2016.

5.5 Resultados Objetivo específico 5: *Realizar un análisis integrado de los resultados obtenidos, que permitan clarificar la existencia de impactos por los componentes de pinturas anti-incrustantes en la biota acuática y en la calidad de los sedimentos marinos.*

Análisis estadístico de variables fisicoquímicas de los sedimentos.

El análisis de ANDEVA de los parámetros fisicoquímicos medidos en las 2 campañas de muestreo (Invierno-verano), nos muestra que la temperatura es diferente entre las campañas de invierno y verano ($P = 2e^{-16}$), al igual que el Redox ($P = 2,96e^{-12}$), el cual es además diferente entre las estaciones de muestreo ($P = 1,19 e^{-10}$), mientras que el análisis de varianza del pH de los sedimentos nos muestra la existencia de diferencias significativas entre las estaciones de muestreo donde se tomó la muestra ($P = 1,54e^{-7}$), pero no entre invierno y verano ($P = 0,24$).

Por otra parte, el análisis multivariado ADONIS (análisis de varianza para datos multivariados) incluyendo temperatura, pH, Redox, Cu y Zn, nos muestra la existencia de diferencias significativas ($P = 0,01$) entre la época del año (invierno-verano) en que se tomó la muestra y también entre las estaciones de muestreo.

Si realizamos un análisis de conglomerados (Figura 46) observamos que las estaciones que más se diferencian de acuerdo a la temperatura, pH, redox,



concentración de Cu y Zn, son la 1 y 2, seguidas de la 6, 13 y 14.

Análisis estadístico muestreo de metales asociados a sedimento, agua y biota del centro Chequian.

Los test de normalidad (Lillie.test) evidenciaron que tanto las muestras de sedimentos como de agua son normales en cuanto a concentración de metales, no así las muestras de biota (*M. pyrifera* y *M. chilensis*).

Metales en agua

Un análisis de varianza de las concentraciones de Cu en el agua muestra que no existe diferencia significativa entre el agua obtenida a la altura de las redes con pinturas anti-incrustantes y las aguas que están asociadas al fondo ($p= 0,69$). Algo similar nos muestra el análisis de varianza con respecto a las concentraciones de Zn en el agua ($p= 0,56$). Tampoco se encontraron diferencias entre las estaciones de muestreo para el Cu ($p=0,30$) y el Zn ($p=0,53$). Diferente es el caso entre las campañas de muestreo donde si existen diferencias entre invierno y verano tanto para el Cu como para el Zn ($p=2e^{-16}$), siendo las concentraciones de Cu más altas en Invierno ($40 \mu\text{g L}^{-1}$ promedio apróx.) que en verano ($3.4 \mu\text{g L}^{-1}$ promedio apróx.), ocurriendo lo contrario para el Zinc ($1.4 \mu\text{g L}^{-1}$ en invierno y $4.7 \mu\text{g L}^{-1}$ en verano apróx.)

Metales en sedimentos

En tanto las concentraciones de Cu en los sedimentos no muestran variaciones significativas entre las estaciones muestreadas ($p= 0,059$), ni tampoco entre las campañas de muestreo ($p= 0,99$). Diferente es el caso del Zn donde existen diferencias significativas tanto entre las campañas de muestreo (mayores en



verano, $p= 8,33e^{-07}$) como entre las estaciones de muestreo ($p=0,04$).

Metales en Biota:

Debido a la imposibilidad de normalizar los datos de la biota obtenida de Chequian, se utilizó el test de Wilcoxon (medidas repetidas). Si bien 3 datos de concentración de Cu en choritos y 3 de huiro durante la campaña de invierno y dentro de la concesión pueden clasificarse como outliers (análisis de outliers en R), estos datos parecen ser observaciones correctas (3 datos de 15 en ambos casos) ya que aunque sean observaciones poco probables pueden ser verdaderas, representando en algunas ocasiones efectos que no se tienen en consideración inicialmente pero que deben ser incluidos en el análisis (Zar, 2010). De acuerdo a estos antecedentes y a lo recomendado por Zar (2010), se decidió no eliminar del análisis los datos extremos de concentraciones de Cu en tejido de organismos encontrados en el muestreo de invierno, dentro de la concesión, teniendo en cuenta que son valores que escapan a la normalidad de los datos y su eliminación en esta ocasión en particular, no afecta la interpretación de los resultados (se realizaron análisis de varianza tentativos sin los datos extremos y no hubo diferencia en los resultados).

Metales en Biota por campaña de muestreo

La comparación de la concentración de Cu en tejido de choritos entre invierno y verano nos arroja diferencias significativas ($P = 9,31e^{-9}$), al igual que la de Zn ($P = 0,02$). La concentración de Cu en huiro por campaña de muestreo también nos arroja diferencias significativas ($P = 0,0008$), lo mismo para el Zn ($P = 8,41e^{-05}$), o sea, existen diferencias significativas en las concentraciones de Cu y Zn en tejidos de chorito y huiro de acuerdo a la época del año (Mayores concentraciones de Cu en invierno y menores de Zn).

Metales en Biota entre estaciones de muestreo

El análisis también nos arroja diferencias entre las estaciones de muestreo de



chorito para el cobre ($P = 0,04$) y el Zn ($P = 0,003$), y para el Cu ($P = 0,03$) pero no para el Zn, ambos en huiro ($P = 0,51$). Esto significa que existen diferencias en las concentraciones de Cu y Zn entre choritos del control y la estación de muestreo. Diferente es el caso del huiro donde solo las concentraciones de Cu son diferentes, pero no de Zn.

Entre especies (chorito y huiro)

El análisis entre especies nos arroja diferencias significativas ($P = 0,0002$) entre las concentraciones de Cu en huiro y chorito y lo mismo sucede con las concentraciones de Zn ($P = 2,7e^{-06}$), esto indica acumulación diferencial de metales de acuerdo a la especie (acumulan aproximadamente el doble de metales los choritos, Cu promedio chorito $4,6 \mu\text{g g}^{-1}$ vs $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ en huiro, Zn promedio chorito $9,0 \mu\text{g g}^{-1}$ vs $6,0 \mu\text{g g}^{-1}$ en huiro).

Cu en tejido choritos de bioensayos versus choritos de Chequian.

Si comparamos concentraciones de Cu en tejido de choritos obtenidos del muestreo de Chequian (Tabla 22) invierno (donde se pusieron las redes impregnadas) con los resultados obtenidos en los bioensayos (tabla 41), tenemos que las concentraciones de Cu en choritos control (fuera de la concesión) en el muestreo presentan concentraciones entre $0,94$ a $9,8 \mu\text{g g}^{-1}$, y los choritos dentro de la concesión va entre $1,0$ a $118,7 \mu\text{g g}^{-1}$ versus los $1,2$ a $38,52 \mu\text{g g}^{-1}$ de los bioensayos (donde se aprecia algún efecto en los choritos ya sea de adhesión del biso o mortalidad en concentraciones más altas).

Sin embargo los resultados de los bioensayos del efecto de los metales en choritos, nos muestran que los efectos medidos sobre el comportamiento y la mortalidad están más relacionados con la concentración del metal en el agua y no con la concentración del metal en los tejidos, esto debido al comportamiento del mitílido



donde se cierra al momento de percibir determinada concentración.

Concentraciones de Cu y Zn en agua de Chequian y en agua de los bioensayos.

Si comparamos las concentraciones de Cu utilizadas en los bioensayos del Objetivo 1 de este proyecto con las obtenidas en los muestreos (Objetivo 2) en la columna de agua de la campaña de invierno, tanto en la concesión como en el control alcanzaron valores promedio de $40 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu aprox., siendo valores similares a los encontrados como LOEC y NOEC de mitílidos (18.8 y $34.8 \mu\text{g L}^{-1}$ en 7 días respectivamente) y huiro (longitud del tubo de germinación 11 y $19 \mu\text{g L}^{-1}$ en 5 días, desarrollo del esporofito normal hasta $35 \mu\text{g L}^{-1}$ en 34 días) en los bioensayos del objetivo 1. La concentración final medida de Cu o de Zn en el agua en esta ocasión, es independiente de la especiación del metal inicial ya que se midió cobre y zinc totales en el agua de mar, en este caso disuelto (se filtró el agua, antes de hacer el análisis en DICTUC a 0.45 micras, y en agua salada se separan los iones de Cobre, Zinc, SO_4^{2-} y Oxígeno y se rodean de moléculas de agua). De acuerdo a esto, el Cobre puede encontrarse de acuerdo a la salinidad del agua de mar (Diagrama de porbaix) en más de un 60% como Cu^{2+} disuelto y un 40 % aprox. forma CuCl que precipita, o en presencia de otro Cl^- pasa a CuCl_2 que es altamente soluble en agua volviendo el Cu^{2+} a la columna de agua. Por otra parte Adeleye *et al.* (2016) Muestran que en agua salada, el 90% del cobre proveniente de pinturas anti-incrustantes está como forma iónica a los 7 días (mismo tiempo de los bioensayos de este estudio y aproximadamente el mismo tiempo transcurrido desde que se pusieron las redes impregnadas en el agua en el primer muestreo campaña de invierno en septiembre de 2015) y 7 % como nano partículas, no detectándose cobre particulado, mientras que a los 14 días la proporción entre disuelto (iónico) y particulado es similar. Cabe destacar que de acuerdo a Meseguer *et al.*, 2004 el 99% del Cu disuelto ($\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$) se une a materia orgánica de la columna de agua. La especiación del cobre en el agua de mar y los tiempos que estos procesos conllevan no son el objetivo de este proyecto y son materia de otros estudios.



Concentraciones de Cu en el agua de mar de los muestreos en Chequian de la campaña de verano fueron mucho menores que las necesarias para causar un efecto según los bioensayos realizados en este proyecto. Algo similar es lo encontrado con el Zn donde las concentraciones ambientales son mucho más bajas que las necesarias para causar algún efecto en los organismos estudiados en esta ocasión.

Esquema sinóptico de los muestreos en Chequian

Un esquema sinóptico referente a las concentraciones promedio, de metales en las diversas matrices y campañas se aprecia en la figura 47, donde se observan las distintas concentraciones promedio de Cu y de Zn en las diferentes matrices analizadas, en las 2 diferentes campañas, separando las mediciones hechas en la concesión de cultivo de salmónidos y los controles ubicados a más de 500 Mts.

La figura 47 nos muestra que la matriz de huiro durante invierno en la estación control presenta concentraciones promedio de Cu de $1,2 \mu\text{g g}^{-1}$ y Zn de $2,2 \mu\text{g g}^{-1}$, en la estación dentro de la concesión la concentración de Cu fue de $5,6 \mu\text{g g}^{-1}$ y de Zn fue de $1,9 \mu\text{g g}^{-1}$, mientras que durante el verano en la estación control la concentración de Cu fue de $0,9 \mu\text{g g}^{-1}$ y de Zn fue de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ y las estaciones dentro de la concesión los valores de Cu fueron de $0,9 \mu\text{g g}^{-1}$ y de Zn fueron de $11,2 \mu\text{g g}^{-1}$.

Para la matriz de chorito, la figura 47 muestra durante invierno fuera de la concesión valores de Cu promedio de $4,2 \mu\text{g g}^{-1}$ y de Zn $9,9 \mu\text{g g}^{-1}$, mientras que en las estaciones dentro de la concesión los valores promedio de Cu fueron de $13,1 \mu\text{g g}^{-1}$ y Zn de $4,4 \mu\text{g g}^{-1}$, mientras que durante el verano las muestras obtenidas en la estación control tuvieron una concentración promedio de Cu de $0,9 \mu\text{g g}^{-1}$ y Zn de $11,8 \mu\text{g g}^{-1}$ y en las estaciones dentro de la concesión las concentraciones de Cu



fueron de $0.5 \mu\text{g g}^{-1}$ y de Zn $9.7 \mu\text{g g}^{-1}$.

La matriz agua durante el muestreo de invierno en la estación control a 20 m, la concentración de Cu fue de $41.8 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que a 1 metro del fondo fue de $42.5 \mu\text{g L}^{-1}$, para la concentración de Zn nos encontramos con valores de 1.7 y $1.4 \mu\text{g L}^{-1}$ a 20 m y a 1 m del fondo respectivamente. Valores de Cu en la campaña de invierno dentro de la concesión a 20 m fueron de $39 \mu\text{g L}^{-1}$ y a 1 m del fondo fueron de $39.7 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que el Zn fue de $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$ y $1.4 \mu\text{g L}^{-1}$ a 20 m y a 1 m del fondo respectivamente. Durante la campaña de verano en la estación control la concentración de Cu en el agua a 20 m de prof fue en promedio $3.9 \mu\text{g L}^{-1}$ y a 1 m del fondo $3 \mu\text{g L}^{-1}$, en Zn a 20 m fue de $5.1 \mu\text{g L}^{-1}$ y a 1 m de fondo fue de $4.2 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que en los puntos de muestreo dentro de la concesión los valores promedio de Cu en el agua a 20 m fue de $3.4 \mu\text{g L}^{-1}$ y a 1 m fue de 3.5, mientras que en Zn a 20 m fue de $4.5 \mu\text{g L}^{-1}$ y a 1 m desde el fondo fue de aprox. $5 \mu\text{g L}^{-1}$.

La matriz sedimentos durante la campaña de invierno en la estación control nos muestra valores promedio de Cu de $4.7 \mu\text{g g}^{-1}$ y Zn de $9 \mu\text{g g}^{-1}$, mientras que en las estaciones dentro de la concesión los valores de Cu fueron de $6.4 \mu\text{g g}^{-1}$ Zn de $10.3 \mu\text{g g}^{-1}$, mientras que en la campaña de verano la concentración promedio de Cu en sedimentos de la estación control fue de $2.9 \mu\text{g g}^{-1}$ y de Zn $13.5 \mu\text{g g}^{-1}$, mientras que en las estaciones dentro de la concesión los valores promedios de Cu en sedimentos fue de $6.7 \mu\text{g g}^{-1}$ y de Zn fue de $18.1 \mu\text{g g}^{-1}$.

La figura 47 muestra la concentración de Cu promedio en las redes impregnadas al ser puestas en la campaña de invierno en el agua, y fue de $11469 \mu\text{g g}^{-1}$ y el Zn fue de $329 \mu\text{g g}^{-1}$, mientras que en al retirar las redes en la campaña de verano el promedio de Cu en las redes impregnadas fue de $6454 \mu\text{g g}^{-1}$ y de Zn fue de $5.3 \mu\text{g g}^{-1}$.

A diferencia de la concentración de Cu en agua, valores de otras matrices como



sedimentos, tejido blando de mitílidos, tejido de huiro, no presentaron valores promedio diferentes a los encontrados en literatura (Salamanca *et al.*, 2004, Vera *et al.*, 2015, Astorga *et al.*, 1998, Anderson *et al.*, 1990).

El objetivo 3 nos indica de acuerdo al modelo de circulación que la localidad de Chequian, donde se realizaron las experiencias de muestreo, es un sistema de alta energía, donde la intensidad promedio de las corrientes son mayores en la dirección Este. El modelo de dispersión de acuerdo a la velocidad de sedimentación de las partículas nos indica que esta se lleva a cabo principalmente hacia la zona Este (mayor velocidad de corrientes). El modelo asume que las partículas sedimentan debido a que el cobre disuelto se une a materia orgánica, pero como muestra la literatura (Adeleye *et al.*, 2016) hay un factor temporal en esto ya que teóricamente el 90% del cobre puede aún estar disuelto a las 7 días luego de haber sido liberado a la columna de agua, mientras que a los 14 días el 50% del cobre ya se encontraría unido a materia orgánica y puede sedimentar. Muestreos en la zona de dispersión y considerando la especiación del cobre en el tiempo en la columna de agua al Este del centro de cultivo estudiado, no se llevaron a cabo por lo que la incertidumbre en cuanto a las concentraciones de metales que se pudieran encontrar en las diferentes matrices es alta, pero lógicamente a mayor dispersión (mayor velocidad de la corriente versus velocidad de sedimentación de la partícula) menor concentración en la matriz analizada. Estudios posteriores teniendo en cuenta la especiación en la columna de agua de los metales estudiados y muestreos son necesarios para evaluar la dispersión hacia el Este de partículas y metales presentes en el centro de cultivo.

Finalmente el objetivo 4 nos entrega valores posibles de Cu entregados al medio ambiente debido al uso de pinturas anti-incrustantes en redes usadas en la industria salmonera en Chile, alcanzando según nuestros cálculos a 64 tons de Cu cada 18 meses (ciclo de cultivo), mientras que el experimento de lixiviación hecho con trozos de redes impregnados con pintura anti-incrustante a base agua nos da promedios



al momento de introducirlas al agua de 1.8 % de Cu en pintura de redes y 0.05 % de Zn durante la campaña de invierno, mientras que durante la campaña de verano, al ser retiradas del agua, nos encontramos con una media de 1.02% de Cu y 0.0008% de Zn. Esto nos da cuenta que en esta ocasión se lixivia 0.79 % de Cu y 0.05% de Zn, en promedio en un periodo de 5 meses, esto equivale a 4.99 mg L⁻¹ de Cu agregado al mar. Debe hacerse notar que los valores de concentración de Cu obtenidos del experimento de lixiviación (1.8% promedio al inicio), son notablemente inferiores a los declarados en las etiquetas de las pinturas anti-incrustantes (8 % de Cu Sherwin William base agua).

Si tomamos en consideración en conjunto los resultados de los 4 primeros objetivos tenemos concentraciones ambientales de Cu en la columna de agua durante los muestreos de invierno (cuando se instalan las redes recién impregnadas con pintura en el agua) y que son comparables (sin tomar en cuenta la especiación del cobre) a las encontradas en los bioensayos que tienen efecto en choritos y huiros. También tenemos que además se lixivian en 5 meses 4.99 mg L⁻¹ de Cu al agua (tasa de lixiviación), lo que equivale a 33 µg L⁻¹ día⁻¹ aprox. (150 días equivalen a 5 meses aprox), suponiendo que la tasa de lixiviación es lineal, lo que en la realidad no ocurre, sino que es exponencial negativa por lo que las tasas de lixiviación al inicio son mucho mayores a 33 µg L⁻¹ día⁻¹ y al final de los 5 meses mucho menores que 33 µg L⁻¹ día⁻¹. De acuerdo a esto deberíamos tener altas concentraciones de Cu en el agua al poner las redes, en este caso en invierno y bajas concentraciones en la columna de agua de Cu al segundo muestreo de verano, que fue cuando se sacaron las redes, lo que coincide con nuestros resultados de muestreos de concentración de Cu en la columna de agua. A esto podemos agregar que el modelo de dispersión permite que las partículas viajen más, mientras mayor sea su tiempo de residencia en la columna de agua (baja velocidad de sedimentación), y obtendríamos concentraciones variables de Cu en la columna de agua en distancias entre 1.5 a 25 km (hacia el Este y Sur), dado que a mayor distancia,



menor concentración en las matrices estudiadas.

Sin embargo la dirección promedio de la dispersión proyectada por el modelo, no involucra a las estaciones control de agua (C1 y C2), pero no debemos olvidar que es material disuelto en la columna de agua y que las direcciones de transporte son un promedio, pudiendo coincidir la dirección de dispersión con el momento de muestreo en la columna de agua en Invierno. Nuevamente se reitera la necesidad en futuros estudios, de nuevos muestreos distribuidos coincidentemente con el modelo desarrollado para validarlo y establecer concentraciones de Cu en las diferentes matrices, además de análisis sobre la especiación del cobre en la columna de agua y su efecto en los organismos estudiados de acuerdo a cada especie de cobre detectada.



6. DISCUSIÓN

De acuerdo a la literatura, parece haber consenso que tanto el Cu como el Zn pueden provocar diversos efectos nocivos en mitílidos y algas, los efectos pueden ir desde alteraciones en el comportamiento, crecimiento, reproducción y muerte de los individuos, variando las consecuencias en los organismos de acuerdo a la concentración de metal, tiempo de exposición, salinidad (Ali & Taylor, 2010), pH, biodisponibilidad y sensibilidad intrínseca de la especie (Contreras *et al.*, 2007). A lo que se suma lo que sugieren algunos autores, donde los patrones de respuesta a la exposición de Cu están caracterizados por respuestas especie-específicos (Lawes *et al.*, 2016)

Los bioensayos con ZnSO₄ indican que efectos en la mortalidad de *M. chilensis* son significativamente diferentes al control a partir de concentraciones (NOEC) de 590 µg L⁻¹ y con CuSO₄ a partir de 154 µg L⁻¹ para organismos adultos, y para juveniles NOEC_{ZnSO₄} de 7790 µg L⁻¹ aprox. y con CuSO₄ a partir de 390 µg L⁻¹ aprox., pero presentando diferentes respuestas según el estadio de desarrollo, siendo sensibles los organismos juveniles a ambas sales por separado, así como también a la mezcla de los iones Zn²⁺ y Cu²⁺. Esto concuerda con lo reportado por Sneddon & Tremblay (2011), quienes mencionan que la toxicidad de los metales en estos organismos también se ve influenciada por factores bióticos como la edad, el sexo y el tamaño del organismo afectado. Cabe destacar que existió un efecto sinérgico a la exposición simultánea de las sales de zinc y cobre tanto en organismos adultos como juveniles con un 70 y 85% de mortalidad, respectivamente.

La sensibilidad o respuesta de los organismos a los metales utilizados en los bioensayos parece ser diferente, siendo el ión de Cobre el que evidencia respuestas a una menor concentración y el ión de zinc el que presenta una mayor tasa de mortalidad asociada a la concentración NOEC (anexo bioensayos) . En mediciones *in situ*, las respuestas comunitarias se observan en el ensamble de las



diferentes especies que la componen, donde la estabilidad y resiliencia de estas comunidades expuestas a diferentes estresores ambientales ha sido atribuida a cambios en índices estructurales como heterogeneidad ambiental riqueza específica y dominancia entre otras (Garman *et al*, 2010).

En términos de adherencia al sustrato como respuesta al bioensayo aplicado nos indican que en la mayoría de los casos existe una disminución en la adherencia a medida que aumenta la concentración de los metales en estudio. Los resultados sugieren un mayor efecto nocivo del Cu^{2+} , ya que presenta menores NOEC y LOEC tanto en adultos como juveniles expuestos. Al igual que lo reportado en párrafos anteriores las concentraciones NOEC manifiestan un intenso sinergismo de sus propiedades tóxicas sobre los organismos de *M. chilensis* evaluados, especialmente en los organismos juveniles presentando efectos significativos al inhibir la adherencia en el 100% de los casos.

En el ambiente acuático, el cobre muestra un complejo ciclo biogeoquímico (Kiaune & Singhasemanon, 2011), donde la toxicidad del cobre está dada por su forma química o especiación y en qué grado se encuentre unido a distintos ligandos presentes en el agua, lo que finalmente influye en la biodisponibilidad que presenta para organismos acuáticos (Burridge *et al.*, 2010). El óxido de cobre lixivia desde la superficie y entra al agua como un ion libre (Cu^+), el cual es oxidado a Cu^{+2} y formas complejas con ligandos inorgánicos y orgánicos (Thomas & Brooks, 2010), dependiendo esto del tiempo de residencia del Cu^{2+} en la columna de agua (Adeleye *et al.*, 2016). El Cu^{+2} es también la forma principalmente responsable de los efectos biocidas del cobre (Kiaune & Singhasemanon, 2011). La biodisponibilidad de ambos metales evaluados da la posibilidad de que invertebrados como *M. chilensis* bioacumulen estos metales directamente a través de su dieta, al igual que lo descrito por Turner *et al*, (2009) donde Cu y Zn fueron



acumulados en tejidos de *M. edulis*.

Existe evidencia experimental (Bryan & Langston, 1992) de que un considerable número de especies son sensibles a concentraciones de cobre disuelto en un rango de 1-10 $\mu\text{g L}^{-1}$, y estas son menores a las encontradas en la columna de agua en Chequian en invierno. Por ejemplo se ha observado que sólo 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cobre tienen efectos significativos sobre juveniles de *Argopecten irradians* y *Spisula solidissima*, también en embriones de ostra *Crassostrea gigas* y el mejillón *Mytilus edulis*, donde la concentración 48h-EC 50, basado en la producción anormal de embriones fue de 5 mg L^{-1} (Bryan & Langston, 1992).

Las concentraciones máximas reportadas para el cobre en distintos países del mundo se encuentran en un rango de 5,7 a 20,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ en la columna de agua (aprox la mitad de lo encontrado en el muestreo de Chequian en invierno, donde el rango menor es equivalente al muestreo de verano), mientras que en el sedimento, el rango varía entre 18 a 169 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Dafforn *et al.*, 2011) (sedimentos de Chequian son aún más bajos que 18 $\mu\text{g g}^{-1}$). Los resultados de bioensayos muestran un amplio rango subletal de toxicidad, entre 3,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Lang *et al.*, 1980; Coglianesse & Martin, 1981, Ahsanullah & Williams, 1991; Franklin *et al.*, 2001) siendo los anfípodos, los más sensibles a este metal (Ahsanullah & Williams, 1991). Las concentraciones letales (LC50) variaron entre 178 a 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Beckmann, 1994; Burridge & Zilko, 2002), concentraciones que son comprables con aquellas encontradas para *M. chilensis* en los bioensayos realizados en nuestro estudio. En otros estudios se han encontrado efectos negativos a nivel comunitario a concentraciones de 30 $\mu\text{g g}^{-1}$ en sedimentos marinos, con pérdida de diversidad de especies de la infauna Antártica (Stark *et al.*, 2003). Según USEPA (2009), la mayor concentración de cobre en agua de mar a la que una comunidad puede estar expuesta brevemente y sin causar un efecto dañino es de 4,8 $\mu\text{g L}^{-1}$, siendo generalmente tóxico en una concentración letal al LC50 % (entendida como la concentración de un producto que es capaz de provocar la muerte del 50% de los



individuos de una muestra, en un período de tiempo) mayores a $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (Bechmann, 1994; Scelzo, 1997, Burrige & Zitko, 2002). Stromgren & Nielsen (1991); estos resultados nos muestran que el LC50 para larvas de *Mytilus edulis* expuestas a cobre es de $30\text{-}35 \mu\text{g L}^{-1}$ y el EC50 se registró en concentraciones entre $5\text{-}6 \mu\text{g L}^{-1}$ Cu. Sin embargo, los organismos tienen diferentes mecanismos por los cuales enfrentan y procesan el cobre. Este elemento es regulado activamente en peces, crustáceos decápodos y algas, siendo almacenado en bivalvos, cirripedios e insectos acuáticos (Kiaune & Singhasemanon, 2011).

Se ha visto que *Mytilus chilensis* de la zona de Magallanes acumula Cu a través del tiempo (Astorga et al., 1998), por lo que individuos de mayor talla poseen mayor concentración de Cu en sus tejidos blandos, con un rango que puede variar de $0,83$ a $4,72 \mu\text{g g}^{-1}$ (con media $2,74 \mu\text{g g}^{-1}$, lo que es comparable a las concentraciones encontradas en tejido de choritos en Chequian). Las concentraciones de Zn en los tejidos fueron variables y los autores hipotetizan que es posible que se autorregule.

Si bien es cierto, metales como el Cu y el Zn parecen acumularse a través del tiempo en mitílidos, parece también haber un efecto estacional. Duarte *et al.* (2011) midieron concentraciones de metales (entre ellas Cu y Zn), en tejido de *M. chilensis* durante todo el año en el canal Beagle, donde no existe efecto antropogénico de contaminación, encontrando diferencias significativas que dependían de la estación del año y de la zona de donde se obtuvieron las muestras, en rangos que van desde $4,77$ a $6,74 \mu\text{g g}^{-1}$ de Cu en tejido por zona y de $2,65$ a $8,32 \mu\text{g g}^{-1}$ de Cu en tejido por estación del año. Para el Zn los rangos van de $94,86$ a $189 \mu\text{g g}^{-1}$ de Zn en tejido por sitio de muestreo y de $84,56$ a $150,40 \mu\text{g g}^{-1}$ de Zn en tejido por estación del año.

En relación a *M. pyrifera*, la germinación de la espora se manifiesta por el asentamiento de la espora flagelada, su adherencia al sustrato y desarrollo de una proyección tubular que da origen al gametófito. Debido a que el bioensayo dura de



3 días, la diferencia morfológica de sexo en los organismos no influye en el largo del tubo de germinación. Al cuantificar la germinación aparente de las esporas sometidas al bioensayo, se constató que en ninguna de las concentraciones a las que fueron expuestas las esporas en el transcurso del bioensayo con Zn^{+2} y Cu^{+2} se inhibió completamente la germinación, sin embargo para el caso del Zn^{+2} se registró un efecto inhibitor estadísticamente significativo sobre la germinación de las esporas. Además se constata que el largo del tubo de germinación se reduce gradualmente con el incremento de la concentración nominal de los metales utilizados y que la germinación aparente sin desarrollo del tubo de germinación ocurre en una proporción significativamente superior al control desde la concentración analítica de $599 \mu g L^{-1}$ de Zn^{+2} y de $11 \mu g L^{-1}$ de Cu^{+2} .

Al analizar los resultados de los bioensayos con la combinación de ambos metales se intensifica la toxicidad de estos, de modo que a una concentración 50% más baja que el NOEC de cada metal en exposición individual genera un acortamiento estadísticamente significativo del tubo de germinación. Por lo que al igual que lo discutido para los bioensayos realizados en *M. chilensis* el efecto sinérgico de los iones de cobre y zinc cobra vital importancia. Esto concuerda con lo reportado por Lawes y colaboradores (2016) donde diferentes respuestas fueron encontradas para la misma concentración de cobre al interactuar con otros estresores ambientales.

Al comparar los resultados de los bioensayos realizados con experimentos realizados sobre etapas microscópicas de *Macrocystis pyrifera*, estos reportan que las variables reproductivas de largo plazo son más sensibles al cobre que las variables vegetativas de corto plazo (Anderson *et al.* 1990), sin encontrar efectos deletéreos a concentraciones menores de $10 \mu g L^{-1}$ para la producción de esporofitos, $10 \mu g L^{-1}$ para el crecimiento de esporofitos, $10 \mu g L^{-1}$ para la germinación in vitro y $50 \mu g L^{-1}$ para la inhibición de la germinación, siendo estas concentraciones similares a lo reportado en presente estudio y concordando con



que las estructuras microscópicas de *Macrocystis pyrifera* presentan sensibilidad a la exposición de los metales evaluados en nuestros experimentos.

La exposición de algas a metales pesados, puede afectar su metabolismo normal y las funciones biológicas, causando inhibición de la fotosíntesis, reducción de citocromos, mutación celular, putrefacción e incluso la muerte (Zhou *et al.*, 2008), siendo similar a lo descrito por Castilla (1983, 1996) y Stauber *et al.* (2005), agregando los últimos, datos sobre la especiación del cobre, su concentración ambiental y finalmente su efecto sobre las algas. Por otra parte, si los metales se acumulan en los tejidos, estos pueden entrar en la cadena alimenticia, causando daños a la parte superior de la trama trófica mediante la biomagnificación (Zhou *et al.*, 2008, DeForest *et al.*, 2007).

Burrige & Bidwell (2002) revisaron el potencial de uso de macroalgas para monitorear las descargas de contaminantes en el sur de Australia, encontraron que concentraciones de cobre que van desde $5 \mu\text{g L}^{-1}$ a $520 \mu\text{g L}^{-1}$ afectan el proceso de germinación, producción de esporofitos y desarrollo de los gametofitos, dependiendo de la especie de alga, la salinidad y las concentraciones de Cu usadas. Algo similar encontraron Kyo *et al.* (1986) al experimentar con *Laminaria saccharina*, donde el desarrollo de gametofitos y la gametogénesis fue disminuida en concentraciones mayores o iguales a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre.

Shir (2004) recopiló datos sobre el efecto en la germinación y crecimiento de esporas de *Macrocystis angustifolia*. Valores de concentración de efectos no observables (NOEC) de esporas expuestas a cobre en rangos de $0,02 - 0,06 \text{ mg L}^{-1}$ en ensayos de germinación de 48 h y de $<0,0005 - 0,002 \text{ mg L}^{-1}$ de cobre para bioensayos de crecimiento. Los valores de concentración más baja de efectos observables (LOEC) estuvieron en el rango de $0,04 - 0,12 \text{ mg L}^{-1}$ para la germinación y de $0,0005 - 0,004 \text{ mg L}^{-1}$ para el crecimiento. Los valores de EC50 estuvieron en rangos de $0,09 - 0,18 \text{ mg L}^{-1}$ con una media de $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ y



coeficiente de variación (C.V.) of 19 %, y 0,01 - 0,07 mgL⁻¹ con una media de 0,05 mg L⁻¹ y C.V. of 38 %, para bioensayos de germinación crecimiento respectivamente. Los análisis de varianza indican diferencias significativas en la respuesta de las esporas a diferentes concentraciones de Cu a través del tiempo. El test a posteriori de Tuckey mostró una respuesta sensitiva de las esporas en verano a diferencia de las otras estaciones del año. Los análisis de varianza entre la germinación y el crecimiento mostraron que el crecimiento es más afectado por el cobre que la germinación, lo cual es comprable a los resultados obtenidos por los bioensayos de *M. pyrifera* en esta ocasión.

En relación a las características físico-químicas de los sedimentos, todas las estaciones de muestreo presentaron bajas concentraciones de materia orgánica (< 6,2 %) y la mayoría de los parámetros físico-químicos exhibieron buenas condiciones, a excepción de las estaciones más cercanas a los módulos que mostraron valores negativos de potencial redox. Las buenas condiciones de estos parámetros en el sedimento están asociados a los patrones de circulación del lugar como a sus características granulométricas y bajo contenido de materia orgánica (máximo 6 %).

En relación al análisis granulométrico, en la mayoría de las estaciones el sedimento estuvo conformado por fracciones más gruesas del sedimento, principalmente por fracciones mayores a 500 µm (> 48%), lo que no favorece una retención de materia orgánica. Asociado posiblemente a los patrones de circulación y topografía del lugar donde se encuentra emplazado el centro Chequian.

En cuanto a las concentraciones de cobre obtenidas de los análisis en el agua, los valores obtenidos en la primera campaña (27,62 – 49,71 µg L⁻¹) fueron elevados si consideramos que en áreas marinas con escasa contaminación las concentraciones reportadas son menores a 6,1 µg L⁻¹ (Correa *et al.*, 1996; Castilla & Correa 1997; Correa *et al.*, 2000), mientras que en áreas contaminadas las



concentraciones de cobre en agua superan $14,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (Correa *et al.*, 1996; Castilla & Correa 1997; Correa *et al.*, 2000). Diferente es lo encontrado durante la época de verano donde las concentraciones si se adecuaron a los estándares de aguas no contaminadas ($2,8-4,59 \mu\text{g L}^{-1}$). Esta variación en la concentración de Cu en el agua entre las campañas de muestreo puede estar relacionada con la instalación de redes recién impregnadas con pinturas anti-incrustantes coordinadas para el primer muestreo en septiembre de 2015 y que por sus características liberan una gran cantidad de Cu al medio durante sus primeros días en el agua. Una revisión del lugar de emplazamiento, nos indica la inexistencia de otras fuentes visibles probables de Cu, incluidos otros centros de cultivo.

La presencia de cobre y zinc en los sedimentos bajo centros de cultivos ha sido ampliamente descrito (ej. Burridge *et al.*, 1999; Dean *et al.*, 2007; Burridge *et al.*, 2010). Según lo recopilado por Burridge *et al.* (2010), a partir de estudios realizados en sedimentos asociados a centros de cultivos en diferentes lugares (Escocia, Canadá, Inglaterra, Nueva Zelanda, entre otros), las concentraciones de cobre y zinc son muy elevadas, con valores entre 48 y $805 \mu\text{g g}^{-1}$ para cobre y de 30 a $921 \mu\text{g g}^{-1}$ para zinc. Disminuyendo las concentraciones a medida que aumenta la distancia de los centros de cultivos (ej. Dean *et al.*, 2007; Burridge *et al.*, 2010). En Chile, el análisis en sedimentos de lugares que se encuentran influenciados por la presencia de centros de cultivos que utilizan pinturas anti-incrustantes arrojaron valores de cobre que oscilaron entre 8,73 y $1034,37 \mu\text{g g}^{-1}$ y de zinc entre 20,25 y $119,28 \mu\text{g g}^{-1}$ (Vera *et al.*, 2015). En contraste a lo anterior, las concentraciones de cobre ($< 13,36 \mu\text{g g}^{-1}$ en invierno y $< 25,78 \mu\text{g g}^{-1}$ en verano) y zinc ($< 19,5 \mu\text{g g}^{-1}$ en invierno y $< 51,31 \mu\text{g g}^{-1}$ en verano) en el sedimento obtenidas en el presente estudio son mucho menores a las reportadas por otros estudios para áreas influenciadas con la presencia de centros de cultivos. La diferencia de concentración de estos 2 metales en los sedimentos en las diferentes campañas de muestreos, pueden estar dadas por el tiempo de depositación y residencia de estos metales en el agua y sedimentos. Estas diferencias pueden también estar asociadas a las características propias de los sedimentos, como granulometría y



contenido orgánico, consideradas como factores que dominan la distribución de metales en los sedimentos (Sutherland *et al.*, 2007; Kalantzi *et al.*, 2013). Mayores concentraciones de cobre y zinc se encuentran asociados a sedimentos finos y mayor contenido de materia orgánica (Kalantzi *et al.*, 2013), características opuestas a las encontradas en los sedimentos de las estaciones analizadas en este estudio.

Estimaciones de balance de masa sugieren que la re-movilización desde los sedimentos podría ser una fuente importante de algunos metales tóxicos en la columna de agua (Beck & Sanudo-Wilhelmy, 2007), por lo que es importante entender la especiación de cobre en agua intersticial del sedimento la que es influenciada por procesos diagenéticos y depende de factores tales como los niveles de oxígeno, temperatura y tipo de sedimento (Kiaune & Singhasemanon, 2011). La biodisponibilidad del cobre es principalmente influenciada por el pH del agua, la dureza, el contenido orgánico y la salinidad (Burrige *et al.*, 2010; Kiaune & Singhasemanon, 2011). Por otro lado, el cobre ligado a materia orgánica es ampliamente considerado como no tóxico por no estar biodisponible (Arnold *et al.*, 2005; Brooks *et al.*, 2007; Thomas & Brooks, 2010). El contenido de carbono orgánico disuelto (COD) también está entre los más importantes factores en reducir la toxicidad del cobre tanto en especies de agua dulce como saladas. El COD forma complejos orgánicos con cobre, reduciendo así, la biodisponibilidad del cobre (Kiaune & Singhasemanon, 2011). Por otra parte, la salinidad del agua influencia la bioacumulación del cobre, afectando su toxicidad, lo que se vio en el caso de *Crassostrea gigas*, donde la acumulación fue inversamente relacionada a la salinidad (Amiard-Triquet *et al.*, 1991).

El estudio para determinar la dispersión espacial de los productos anti-incrustantes presentes en las pinturas antifouling se realizó mediante la implementación de un modelo hidrodinámico acoplado a un modelo de transporte de partículas, que simula a través de parámetros como la velocidad de sedimentación el transporte y



deposición de materia orgánica proveniente de la producción acuícola. La relación entre la materia orgánica y el cobre disponible disuelto, se basa en antecedentes de estudios que indican que sobre el 99% de este, es incorporado a complejos orgánicos, generando que los metales precipiten por una disminución en la solubilidad y sedimenten acumulándose en el piso oceánico (Ansari et al., 2004).

La circulación simulada por el modelo hidrodinámico muestra, en general, buena concordancia con las observaciones realizadas tanto de corriente de corrientes como de mareas, lo que permite tener un buen grado de confianza respecto del componente físico que forma parte de la dinámica del transporte de desechos de la acuicultura. Las observaciones cercanas al sitio de Chequian muestran correlaciones en el rango de 0.6 a los 0.83 con una media de 0.74, mientras que los errores normalizados están en el rango de 12 % a 21 % con una media de 15.4 %. De esto se desprende que el modelo hidrodinámico se encuentra un buen nivel de calibración.

El modelo de circulación permite tener una visión general de la amplia variabilidad de las corrientes que existe en una zona relativamente acotada, la generación de zonas de muy alta energía junto a otras de mucho menor ventilación genera, sin duda, variaciones en cuanto al área de influencia de cada centro de cultivo, especial importancia pueden tener aquellas zonas con formación de remolinos pues estas podrían actuar como lugares de acumulación de compuestos orgánicos, en definitiva es posible encontrar distintas escalas de influencia de un centro de cultivo respecto de sus desechos y es la influencia en el campo lejano lo que es más desconocido, pues es posible que existan zonas en donde puedan interactuar más de 1 centro de cultivo en la acumulación de estos desechos.

Como se indicó anteriormente en la metodología respecto del modelo de transporte, el enfoque en la modelación fue de simular el transporte de partículas de cobre a



través de “conductores” que sean capaces de realizar la transferencia desde la columna de agua al sedimento. Este conductor es primariamente la materia orgánica derivada de los centros de cultivo de salmón (pellet de alimento y fecas de salmón), se hace hincapié en que esta aproximación no incluye procesos de especiación química, ni sobre material disuelto. Otra situación importante que debe ser claramente entendida, es que los resultados de las simulaciones de transporte de partículas están enfocados al fondo marino, no puede inferirse a través de los resultados aquí expuestos, áreas de influencia, ni concentraciones de material en la columna de agua.

Por otro lado, no es objetivo de estos experimentos la cuantificación de concentraciones de material en el fondo marino, sino más bien, poder tener una visión espacial de la dependencia de forzantes físicos en la dispersión en sitios con distintas características, es decir, los resultados mostrados aquí permiten tener una visión general de la variabilidad espacial de la distribución de material en el fondo que permita indicar, primero si esta distribución es uniforme en distintos sitios de cultivo de salmón y si esto no es así, cual puede ser esta diferencia tomando en cuenta áreas que presentan características de circulación distintas, o sea, si estas pueden ser dispersivas o acumulativas.

Los resultados de transporte de material indicaron que la zona de Chequian presenta características altamente dispersivas y hacia el exterior (orientación Este) de los canales de Chiloé, esto se corrobora con resultados de correntimetría realizado en ese sector, esta característica genera amplias áreas de cobertura pero de muy baja concentración. Las características de este sitio (Chequian) no permitieron tener un muestreo en los sedimentos (materia orgánica, cobre, etc.) que permitirá comparar con el modelo implementado, no obstante, en el sitio de Linlin fue posible verificar que la distribución espacial de cobre y materia orgánica tiene similares características. Respecto de este último, se puede indicar que presenta características más “acumulativas” que Chequian, ya que su tasa de acumulación



de material es aproximadamente 3 veces mayor.

En relación a la cuantificación de los compuestos anti-incrustantes contribuidos al ambiente marinos, el catastro realizado ha identificado 20 empresas salmoneras de 22 que utilizan redes impregnadas y 16 empresas que realizan este servicio. Se encuestaron un 60 % del total de las empresas salmoneras, las cuales presentan entre 7 a 13 centros operativos cada una, con un número de módulos que varía entre 1 y 2, con diez jaulas cada uno, por cada centro operativo estas empresas utilizan entre 14000 y 29000 L de pintura por ciclo productivo, con una suma total de 881.845 L de pintura utilizada por el total de las salmoneras por ciclo productivo (60% de las empresas salmoneras), de los cuales mayoritariamente son pinturas a base agua. En relación a las empresas que prestan el servicio de impregnación, se encuestó un 56,3 % del total de las cuales la mayoría utiliza pinturas comerciales base a agua (~76 %), con un rendimiento entre 0,52 a 0,7 litros por kilo de red seca. Se hace presente que lamentablemente pese a la insistencia hacia las empresas y talleres de redes no se pudo obtener información adicional para completar el universo de 100% de empresas salmoneras y talleres de impregnación. Esta es una limitante que debe ser corregida reglamentariamente, pues es la única forma de acceder a información objetiva de todo el universo de interés, cuando se trata de temas de relevancia para cautelar apropiadamente las condiciones del entorno ambiental.

Por otra parte, en el balance que se presenta en los resultados del objetivo 4 de este informe, acerca de la cantidad de Cu y Zn que se agrega a los océanos del sur de Chile para el ciclo productivo 2014-2015, puede ajustarse de acuerdo al número de empresas a considerar, tipos de pintura usadas por las empresas y su proporción de mercado y de acuerdo a los litros utilizados en general por la empresas salmoneras. También hay que tener en consideración que existe una diferencia entre los litros de pintura declarados por las empresas salmoneras y los litros de



pintura declarados por los talleres de redes (4 veces más altos).

Hay que agregar a esto, que la concentración promedio de Cu utilizada en este caso ($44,26 \text{ mg L}^{-1}$) es equivalente a aprox. un 7% de Cu en peso seco de pintura y si pensamos que en general los fabricantes de pinturas declaran entre un 8 a un 12 % en peso seco de Cu (IFOP 2012), el balance de aporte de cobre de acuerdo a este modelo es bastante conservador.

Sin embargo el experimento de lixiviación nos arroja resultados contradictorios en referencia a la concentración de las pinturas usadas en la impregnación de redes donde el año 2012 se obtuvo una concentración promedio de 7% y en esta ocasión la pintura usada solo alcanzó el 1.89%, concentración muy por debajo de los estándares usados en la industria. Aun así al sacar las redes del agua y medir la concentración de Cu y de Zn en la pintura restante nos podemos hacer una idea de cuánto metal es el que queda en ella y no se lixivía (1.02% de cobre en pintura).

Vistos los valores de Cu y Zn en agua tanto en muestreos como en bioensayos, nos encontramos con que la concentración de Cu en el agua exhibe una cierta relación con los efectos en los organismos, no así la concentración de metal en tejido cuya acumulación y sus efectos no son claros en relación a la magnitud de la concentración de metal en el agua. Diversos estudios demuestran que los organismos marinos varían en su acumulación y tolerancia al Cu y Zn, debido en parte a las vías de captación y asimilación. El estudio de McLusky *et al.* (1986) sugiere que los anélidos son más sensibles que los crustáceos y los moluscos a la contaminación por metales. Debido a que una alta concentración de metales es generalmente asociada a sedimentos finos, aquellos organismos que se alimentan de partículas en suspensión enfrentan un mayor grado de riesgo que las especies pelágicas y las que viven adheridas al sustrato rocoso.

Se ha evaluado comparativamente el uso de jaulas de Cu y de pinturas AF en la



salmonicultura en Chile (Correa *et al.*, 2012), encontrándose que en experimentos de meso-cosmos (1 m³ de agua de mar) las mallas de aleación liberan hasta 11 µg L⁻¹ de Cu al medio, siendo esto casi el doble del nivel sin efecto de 5,2 µg L⁻¹ de Cu estimado en la evaluación voluntaria de riesgo del Cobre, realizada en la Unión Europea. Los mismos autores estimaron mediante un modelo MAMPEC las concentraciones ambientales predichas (macrocosmos), y concluyen finalmente que ni las jaulas de Cu ni las pinturas anti-incrustantes representan un riesgo ambiental.

Por otra parte hay que tomar en cuenta la heterogeneidad ambiental de fiordos y canales donde se realiza la salmonicultura, donde los resultados obtenidos en este estudio y en la primera parte realizada el 2012 (IFOP 2012, Vera *et al.*, 2015), nos permiten obtener una idea integral de lo que ocurre en todo el espacio donde se realiza esta actividad. En el primer estudio realizado el año 2012, tenemos ambientes de baja y mediana energía, con poca dispersión de partículas (Ej Lin-Lin y Llingua), mientras que en esta ocasión nos encontramos con un sistema de alta energía y dispersión de partículas como lo es Chequian, lo que nos da una idea general de cómo se comportan determinados materiales y posibles contaminantes de acuerdo a las características particulares de cada ambiente, teniendo siempre en cuenta los supuestos, limitaciones y características del modelo utilizado en ambas ocasiones.

Finalmente se recalca la necesidad de más estudios referente a lixiviación y especiación del Cu proveniente de redes impregnadas con pintura anti-fouling, además de estimación mediante trampas de sedimentos de cuanto es el Cu que efectivamente se deposita en los sedimentos marinos asociados a la acuicultura.



7. CONCLUSIONES

1) En los bioensayos realizados, la adherencia de ejemplares de *M. chilensis* resultada afectada negativamente al ser expuestos a los metales Zn y Cu, siendo este efecto incremental en la medida que se incrementan las concentraciones de Zn y Cu en el agua. En tanto la mortalidad de *M. chilensis* es afectada principalmente por la presencia de Cu en el agua de mar. Los resultados de adherencia y mortalidad sugieren un mayor efecto tóxico del Cu sobre individuos de *M. chilensis*. La presencia de ambos metales sugiere un efecto sinérgico disminuyendo el NOEC en individuos juveniles como adultos.

2) La exposición de esporas de *M. pyrifera*, en los bioensayos realizados, a los metales Zn y Cu genera efectos adversos en su desarrollo, provocando principalmente una disminución significativa en el largo del tubo de germinación e inhibición de la formación de esporofito e incluso de gametofito. Para el caso de las esporas expuestas a Zn además se apreció inhibición en la germinación de zoosporas. En tanto frente a elevadas concentración de Cu se aprecia además, una pérdida de color en los cloroplastos del gametofito. Es necesario destacar que la disminución en el largo del tubo de germinación se intensifica ante una presencia combinada de estos metales, disminuyendo la concentración NOEC de ambos metales en por lo menos un 50%.

3) Las concentraciones de cobre en la columna de agua fueron elevadas comparadas con la literatura (invierno), a diferencia de lo obtenido en el sedimento, donde las concentraciones fueron bajas en relación a estudios anteriores.

4) Se presenta un estudio que combina un modelo hidrodinámico de campo cercano y lejano acoplado a un modelo de sedimentación de partículas, junto a una distribución de distintas velocidades de sedimentación de los desechos orgánicos, referidos a fecas y alimento de salmón. Basado en el antecedente de que la materia orgánica es un importante conductor en la sedimentación de



metales como el cobre hacia el fondo marino.

5) La circulación en el archipiélago de Chiloé presenta alta variabilidad en cuanto a sus patrones locales como regionales, situación que hace necesario abordar el problema de la determinación de áreas de influencia de los desechos de la industria acuícola desde una óptica que considere la variación espacial y temporal de las corrientes.

6) El modelo hidrodinámico muestra una alta concordancia con las observaciones cercano al sitio de Chequian. Las correlaciones se encuentran en el rango de 0.6 a los 0.83 con una media de 0.74, mientras que los errores normalizados están en el rango de 12 % a 21 % con una media de 15.4 %. De esto se desprende que el modelo hidrodinámico se encuentra en un buen nivel de calibración.

7) Se evaluaron 2 sitios de estudio para determinar en área de influencia de material liberado desde estos centros de cultivo. Los resultados mostraron una alta variabilidad en cuanto a su capacidad dispersiva, encontrándose siempre la mayor concentración de material acumulado en el entorno del centro de cultivo.

8) El sitio ubicado en punta Chequian que obtiene una mayor área de influencia para velocidades bajas de sedimentación, pudiendo alcanzar distancias de alrededor de 25 Km. pero con muy bajas concentraciones, mientras que el sitio de Linlin presenta una distancia máxima de 3 Km.

9) De acuerdo los resultados de modelación, la capacidad del sitio para acumular material es aproximadamente 3 veces mayor en Linlin que en Chequian, esto explicado por la hidrodinámica de cada sector.

10) Muestreos en sedimentos realizados con anterioridad en Linlin muestran que efectivamente el patrón de distribución espacial es similar para el cobre y la



materia orgánica.

11) En relación al uso de las pinturas anti-incrustantes, la mayoría de las empresas salmoneras de la región impregna sus redes, principalmente con pinturas a base de agua utilizado entre 14000 y 29000 L de pintura por ciclo productivo y la suma total de pintura utilizada por las salmoneras da un total de 881.945 L de pintura (60% del total de las empresas). En tanto las empresas de impregnación encuestadas utilizan en su mayoría pinturas a base agua con un rendimiento entre 0,52 a 0,7 litros por kilo de red seca.

12) El balance de pinturas y su concentración de Cu, nos muestra que en su medida más conservadora se están introduciendo 64 toneladas de Cu (7% Cu peso seco pinturas) al océano por ciclo productivo de salmónidos en el sur de Chile. Para el Zinc encontramos que se están aportando en su medida más conservadora 42 kg ya que el mínimo de las pinturas en Chile lo incluyen en su elaboración.

13) El experimento de lixiviación nos indica que aún después de 5 meses de las redes en el agua aún queda un 1% aprox de cobre en la pinturas de redes, iniciando desde un 1.8%), lixiviándose hacia el ambiente marino el equivalente a 4.99 mg L⁻¹.

14) La concentración de cobre en la pintura declarada en este experimento (Sherwin Williams base agua 8% Cu) difiere sustancialmente de la concentración obtenida mediante análisis de ICP-MS (1.8 % promedio).



8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahsanullah, M. & A. Williams. 1991. Sublethal effects and bioaccumulation of cadmium, chromium, copper, and zinc in the marine amphipod *Allorchestes compressa*. *Mar. Biol.* 108: 59-65.
- Ali, M. & A. Taylor. 2010. The effect of salinity and temperature on the uptake of cadmium and zinc by the common blue mussel, *Mytilus edulis* with some notes on their survival. *Mesopot. J. Mar. Sci.*: 25 (1): 11 – 30.
- Adeleye, A., Oranu, E., Tao, M. & A. Keller. 2016. Release and detection of nanosized copper from a commercial antifouling paint. *Water Research.* 102:374-382.
- Amiard-Triquet, C., B. Berthe & R. Martoja. 1991. Influence of salinity on trace metal (Cu, Zn, Ag) accumulation at the molecular, cellular and organism level in the oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. *Biol. Met.* 4: 144–150.
- Anderson, B., & J. Hunt. 1988. Bioassay methods for evaluating the toxicity of heavy metals, biocides and sewage effluent using microscopic stages of giant kelp *Macrocystis pyrifera* (Agardh): A preliminary report. *Marine Environmental Research*, 26 (2): 113-134.
- Anderson, B., Hunt, J., Turpen, S., Coulon, A. & M. Martin. 1990. Copper toxicity to microscopic stages of giant kelp *Macrocystis pyrifera*; interpopulation comparisons and temporal variability. *MEPS* 68: 147-156.
- Ansari, T.M., I.L. Marr, N. Tariq, 2004. Heavy Metals in Marine Pollution Perspective-A Mini Review. *Journal of Applied Sciences* 4(1): 1-20.
- Arnold, W., R. Santore & J. Cotsifas. 2005. Predicting copper toxicity in estuarine and marine waters using the biotic ligand model. *Mar. Pollut. Bull.* 50: 1634–1640.
- Astorga, M.S, Peña E., Palma, O. & F.J García.1998. Heavy metals in *Mytilus chilensis* from the strait of magallenes (Chile). *Marine Pollution Bulletin*, 36



(7): 542-546.

Atared. 2008. El lavado de redes in situ y en plataformas flotantes, la perspectiva de ATARED A.G. En: <http://www.atared.cl/admin/data/upimages/INFORMEDIRINMARLAVADOINSITU.pdf>.

Bannister R., Johnsen I., Hansen P., Kutti T., and Lars Asplin. 2016 Near- and far-field dispersal modelling of organic waste from Atlantic salmon aquaculture in fjord systems ICES J. Mar. Sci. 2016.

Bechmann, R.K. 1994. Use of life tables and LC50 tests to evaluate chronic and acute toxicity effects of copper on the marine copepod *Tisbe furcata* (Baird). Environ. Toxic. Chem. 13: 1509-1517.

Beck, A. & S. Sanudo-Wilhelmy. 2007. Impact of water temperature and dissolved oxygen on copper cycling in an urban estuary. Environ. Sci. Technol. 41(17):6103–6108.

Braithwaite, R., M. Carracosa & L. McEvoy. 2007. Biofouling of salmon cage netting and the efficacy of a typical copper-based antifoulant. Aquaculture 262: 219-226.

Brooks, K. 2000. Determination of copper lost rates from Flexgard XI™ treated nets in marine environments and evaluation of the resulting environmental risks. Report to the Ministry of Environment for the BC Salmon Farmers Association. 1200 West Pender St. Vancouver BC. 24 pp.

Brooks, S.J., T., Bolam, L. Tolhurst, J. Bassett, J. La Roche, M. Waldock, J. Barry, & K.V. Thomas. 2007. The effects of dissolved organic carbon on the toxicity of copper to the developing embryos of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Environ. Toxicol. Chem. 26: 1756–1763.

Bryan, G. & W. Langston. 1992. Bioavailability, accumulation and effect of heavy metals in sediments with special reference to united kingdom estuaries: a review. Environmental pollution 76: 89-131.

Burrige, L., K. Doe, K. Haya, P. Jackman, G. Lindsay & V. Zitko. 1999. Chemical



- analysis and toxicity tests on sediments under salmon net pens in the Bay of Fundy. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci., 2291: 39 pp.
- Burrige, L., Weis, J., Cabello, F., Pizarro, J., Bostick, K. 2010. Chemical use in salmon aquaculture: A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture* 306: 7-23.
- Burrige, L.E. & V. Zitko. 2002. Lethality of Copper Sulfate and Copper-Treated nets to Juvenile Haddock, *Melanogrammus aeglefinus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 69: 378-383.
- Burrige, T.R. & J. Bidwell. 2002. Review of the potential use of brown algal ecotoxicological assays in monitoring effluent discharge and pollution in southern Australia. *Marine Pollution Bulletin* 45: 140–147.
- Cárdenas. 2004. Resumen repositorio proyectos Fondef “Sistemas intensivos de cultivos de peces y sus aplicaciones como agente antimicótico, en agua dulce, y antifouling de descarga lenta en agua de mar”. Proyecto D04I1286.
- Carr, M. 1997. Primer User Manual. Plymouth Marine Laboratory Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research. Plymouth. PL13DH, UK. 63 pp.
- Castilla, J. C. & J. A. Correa. 1997. Copper Tailing Impacts in Coastal Ecosystems of Northern Chile: From Species to Community Responses, in: Moore, M. R., Imray, P., Dameron, C., Callan, P., Langley, A. and Mangas, S. (eds.), *Copper – Report of an International Meeting*, South Australian Health Commission, National Environmental Health Forum, Openbook Publishers, Australia.
- Castilla, J.C. 1983. Environmental impact in Sandy beaches of copper mine at Chañaral, Chile. *Marine Pollution Bulletin*. Vol 14. N°12, pp 459-464.
- Castilla, J.C. 1996. Copper mine tailing disposal in northern Chile Rocky Shores: *Enteromorpha compressa* (chlorophyta) as a sentinel species. *Environmental Monitoring and assessment* 40:171-184.
- Coglianesi, M. & M. Martin. 1981. Individual and Interactive Effects of



Environmental Stress on the Embryonic Development of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. I. The Toxicity of Copper and Silver. *Mar. Environ. Res.* 5:13-27.

Chesworth, J. C., Donkin, M.E. & M.T. Brown. 2004. The interactive effects of the antifouling herbicides Irgarol 1051 and Diuron on the seagrass *Zostera marina* (L.). *Aquatic Toxicology* 66 (2004) 293–305.

Contreras L, MH Medina, S Andrade, V Oppliger & JA. Correa. 2007. Effects of copper on early developmental stages of *Lessonia nigrescens* Bory (Phaeophyceae). *Environmental Pollution*, 145: 75-83.

Correa, J. M., P. González, P. Sánchez, J. Muñoz & C. Orellana. 1996. Copper-algae interactions: Inheritance or adaptation?. *Environ. Mon. Assess.* 40, 41.

Correa, J., Andrade, S., Palma, A. & J. C. Torres. 2012. Evaluacion comparativa del riesgo ecotoxicologico de aplicaciones de cobre en salmonicultura. Memoria proyecto Innova-Corfo (09MCSS-6684).

Correa, J., M. A. Ramirez, J-P. De Laharpe, D. Roman & L. Rivera. 2000. Copper, coppermining effluents and grazing as potential determinants of algal abundance and diversity in northern chile. *Environmental Monitoring and Assessment* 61: 265–281.

Cromey, C. J., Nickell, T. D., and Black, K. D. 2002a. Depomod – modelling the deposition and biological effects of waste solids from marine cage farms. *Aquaculture*, 214: 211– 239.

Dafforn K., J. Lewis & E. Jonston. 2011. Antifouling strategies: History and regulation, ecological impacts and mitigation. *Mar. Pollut. Bull.* 62: 453-465.

Danish Hydraulics Institute (DHI). 2011. MIKE 3 Flow Model FM, Hydrodynamic module. User guide.

Dean, Rebecca J., T. M. Shimmiel, K. D. Black. 2007. Copper, zinc and cadmium in marine cage fish farm sediments: An extensive survey. *Environmental*



Pollution 145: 84-95.

- DeForest, D., K. Brix, & W. Adams. 2007. Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: The inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. *Aquat.Toxicol.* 84: 236–246.
- DHI, 2014. MIKE 3 FM, User guide and reference manual. Danish Hydraulic Institute, Denmark.
- Díaz, C., Figueroa, Y. & C. Sobenes. 2011. Effect of different longline farming designs over the growth of *Mytilus chilensis* (Hupé, 1854) at Llico Bay, VIII Región of Bio-Bio, Chile. *Aquacultural Engineering*, Volume 45, Issue 3, Pages 137-145.
- Duarte, C., Giarratano, E., Amin, O. & L. Comoglio. 2011. Heavy metal concentrations and biomarkers of oxidative stress in native mussels (*Mytilus edulis chilensis*) from Beagle Channel coast (Tierra del Fuego, Argentina). *Marine Pollution Bulletin*, Volume 62, Issue 8, Pages 1895-1904.
- Duarte, C., Navarro, J.M., Acuña, K., Torres, R., Manríquez, P.H., Lardies, M.A., Vargas, C.A., Lagos, N.A. & V. Aguilera. 2014. Combined effects of temperature and ocean acidification on the juvenile individuals of the mussel *Mytilus chilensis*. *Journal of Sea Research*, Volume 85, Pages 308-314.
- EPC (European Parliament and of the Council). 1998. Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council of 16 February Concerning the Placing of Biocidal Products on the Market. *Off. J. Eur. Communities L* 123/1 of 24.04.98.
- Fent, K. 1996. Ecotoxicology of organotin compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* 26: 1–117.
- Fitridge, I., T. Dempster, J. Guenther & E. Rocky de Nys. 2012. The impact and control of biofouling in marine aquaculture: a review. *Biofouling* 28(7): 649-



669.

- Franklin, N. M., Stauber, J. L. & R. P. Lim. 2001. Development of flow cytometry-based algal bioassays for assessing toxicity of copper in natural waters. *Environmental Toxicology and chemistry*. Volume 20, Issue 1. Pages 160–170.
- Frontalini F, R. Coccioni. 2012. The Response of Benthic Foraminiferal assemblages to Copper Exposure: A Pilot Mesocosm Investigation. *Journal of Environmental Protection*, 3, 342-352.
- Garman, G., Pillai, M., & G. Cherr. 1994. Inhibition of cellular events during early algal gametophyte development: effects of select metals and an aqueous petroleum waste. *Aquatic Toxicology*, Volume 28, Issues 1–2, Pages 127-144.
- Garman, E., J.A., Schoolmaster, D.R., Gross, K.L., 2010 Mechanisms contributing to stability in ecosystem function depend on the environmental context. *Ecol. Lett.* 13. 1400-1410.
- Guardiola, F., A. Cuesta, J. Meseguer & M. Esteban. 2012. Risks of using antifouling biocides in aquaculture. *Int. J. Mol. Sci.* 13: 1541-1560.
- Instituto de Fomento Pesquero (IFOP). 2010. Determinación de las condiciones oceanográficas en las áreas Seno de Reloncaví y mar interior de Chiloé. Informe Final Convenio Asesoría Integral para la Toma de Decisiones en Pesca y Acuicultura. ASIPA-Subsecretaría de Pesca, 250 pp.
- Instituto de Fomento Pesquero (IFOP). 2012. Determinación y evaluación de los componentes presentes en Pinturas anti-incrustantes utilizadas en la acuicultura, sus efectos y acumulación en sedimentos Marinos de la décima Región de Los Lagos.
- Kalantzi, I., T.M. Shimmiel, S.A. Pergantisc, N. Papageorgiou, K.D. Black, I. Karakassis. 2013. Heavy metals, trace elements and sediment geochemistry at four Mediterranean fish farms. *Science of the Total*



Environment, 444: 128–137.

Keeley, N. B., C. J. Cromey, E. O Goodwin, M. T. Gibbs, & M. C. Macleod. 2013. Predictive depositional modelling (depomod) of the interactive effect of current flow and resuspension on ecological impacts beneath salmon farms. *Aquaculture Environment Interactions*, 3: 275– 291.

Kiaune, L. & N. Singhasemanon. 2011. Pesticidal copper (I) oxide: Environmental fate and aquatic toxicity. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 213: 1–26.

Kontantinou, I. & T. Albanis. 2004. Worldwide occurrence and effect of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: A review. *Environ. Int.* 30: 235-248.

Kyo, Chung, I. Boudewijn & H. Brinkhuis. 1986 Copper effects in early stages of the kelp *Laminaria saccharina*. *Marine Pollution Bulletin* vol 17 n° 5, 213-218.

Lang, W.H., R. Forward, D. Miller & M. Marcy. 1980. Acute toxicity and sublethal behavioral effects of copper on barnacle nauplii (*Balanus improvisus*). *Mar. Biol.* 58: 139-145.

Lawes, J. C., Clarka G. & E. L. Johnston., 2016. Contaminant cocktails: Interactive effects of fertilizer and copper paint on marine invertebrate recruitment and mortality. *Mar. Pollut. Bull.* 102, 148–159.

Lewis, J. 1998. Marine biofouling and its prevention on underwater surfaces. *Mater. Forum* 22: 41-61.

Lorentzen, M., A. Maage & K. Julshamn. 1998. Supplementing copper to a fish meal based diet fed to Atlantic salmon parr affects liver copper and selenium concentrations. *Aquac. Nutr.* 4:67-72.

Lovegrove, T. 1979. Control of fouling in farm cages. *Fish Farm. Int.* 6(1): 33-37.

MacLeod, C & R. Eriksen. 2009. A Review of the Ecological Impacts of Selected Antibiotics and Antifoulants Currently used in the Tasmanian Salmonid Farming Industry (Marine Farming Phase), FRDC 2007/246, [Contract



Report].

- McLusky, D., Bryant, V. & Campbell, R. 1986. The effects of temperature and salinity on the toxicity of heavy metals to marine and estuarine invertebrates. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 24, 481-520.
- Navarro, L., J. U. Fernández-Reiriz & A Velasco. 2003. Feeding behavior and differential absorption of biochemical components by the infaunal bivalve *Mulinia edulis* and the epibenthic *Mytilus chilensis* in response to changes in food regimes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Volume 287, Issue 1, 26, Pages 13-35.
- Okamura, H., I. Aoyama, Y. Ono & T. Nishida. 2003. Antifouling herbicides in the coastal waters of western Japan. *Mar. Pollut. Bull.* 47: 59–67.
- Olsgard F. 1999. Effects of cooper contamination on recolonization of subtidal marine soft sediments- an experimental field study. *Marine Pollution Bulletin*, 38 (86):448-462.
- Omae, I. 2003. General aspects of tin-free antifoulants paints. *Chem. Rev.* 103: 3431-3448.
- Plaza, J. & M. Viera. 2012. “Remoción de metales pesados empleando algas marinas”. Tesis Doctoral. Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de la Plata.
- Plaza, J., C. Bernardelli, M. Viera, E. Donati & E. Guibal. 2011. Biosorption of mercury by *Macrocystis pyrifera* and *Undaria pinnatifida*: Influence of zinc, cadmium and nickel. *Journal of Environmental Sciences*, 23 (11): 1778-1786.
- Plaza, J., C. Bernardelli, M. Viera, E. Donati & E. Guibal. 2012. Zinc and cadmium biosorption by untreated and calcium-treated *Macrocystis pyrifera* in a batch system. *Bioresource Technology*, 116: 195-203.
- Salamanca, M. A., Jara, B. B. & T. Rodríguez. 2004. AGUA Y *PERUMYTILUS PURPURATUS* EN BAHIA SAN JORGE, NORTE DE CHILE. *Gayana*



68(1): 53-62.

- Scelzo, M. 1997. Toxicidad del cobre en larvas nauplii del camarón comercial *Artemesia longinaris* Bate (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). Invest. Mar. Valparaíso 25(1): 77-185.
- Shir, V. 2004. The effects of treated sewage effluent on three species of marine macroalgae. A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy. Sustainability Group. Victoria University.
- Silva J., C. Fuentealba, E. Bay-Schmith & A. Larrain. 2007. "Estandarización del bioensayo de toxicidad aguda con *Diplodon chilensis* usando un tóxico de referencia." Gayana 71 (2): 135-141.
- Sneddon, R. & L. Tremblay. 2011. The New Zealand King Salmon Company Limited: Assessment of Environmental Effects - Copper and zinc. The New Zealand King Salmon Company Ltd. Cawthron Report No. 1984. 53 pp. Disponible en: <http://www.epa.govt.nz/Publications/Appendix06%20Copper%20zinc%20Report.pdf>.
- Stark, J., M. Riddle, I. Snape & R. Scouller. 2003. Human impacts in Antarctic marine soft-sediments assemblages: correlations between multivariate biological patterns and environmental variables at Casey Station. Estuar. Coast. Shelf. Sci. 56: 717-734.
- Stauber, J., S. Andrade, M. Ramirez, M. Adams & J. Correa. 2005. Copper bioavailability in a coastal environment of Northern Chile: Comparison of bioassay and analytical speciation approaches. Marine Pollution Bulletin 50: 1363–1372.
- Stromgren, T & M. Nielsen. 1991. Spawning frequency, growth and mortality of *Mytilus edulis* larvae exposed to copper and diesel oil. Aquatic toxicology 21: 171-180.
- Sutherland, T.F., S.A. Petersen, C.D. Levings, A.J. Martin. 2007. Distinguishing between natural and aquaculture-derived sediment concentrations of



- heavy metals in the Broughton Archipelago, British Columbia. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 1451–1460.
- Thomas, K. & S. Brooks. 2010. The environmental fate and effects of antifouling paint biocides. *Biofouling*, 26: 73-78.
- Turner, A., M. Barrett & M.T. Brown. 2009. Processing of antifouling paint particles by *Mytilus edulis*. *Environmental Pollution* 157, 215–22.
- USEPA. 2009. Recommended Water Quality Criteria. 21 pp. Disponible en: <http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/current/upload/nrwqc-2009.pdf>.
- Vera, R., C. Duarte, E. Pinilla, V. Murillo, M. Oyarzún & G. Aroca. 2015. Determinación y evaluación de los componentes presentes en las pinturas anti-incrustantes utilizadas en la acuicultura y sus posibles efectos en sedimentos marinos en el sur de Chile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 43(2): 351-366.
- Watermann B.T., B. Daehne, S. Sievers, R. Dannenberg, J.C. Overbeke, J. W. Klijnstra & O. Heemken. 2005. Bioassays and selected chemical analysis of biocidefree antifouling coatings. *Chemosphere*, 60: 1530–1541.
- Weise, A. M., C. J. Cromey, M. D. Callier, P. Archambault, J. Chamberlain & C. W. McKindsey. 2009. Shell fish-depomod: modelling the biodeposition from suspended shellfish aquaculture and assessing benthic effects. *Aquaculture*, 288: 239– 253.
- Yebra, D.M., Kiil, S. & K. Dam-Johansen. 2004. Antifouling technology-past, present and future step towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Prog. Org. Coat.* 50: 75–104.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, F., & G. Jiang. 2008. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta* 606:135-150.
- Zúñiga M; P. Vallejos, A. Larraín & E. Bay-Schmith. 2003. Toxicity of copper on four



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISIÓN INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA

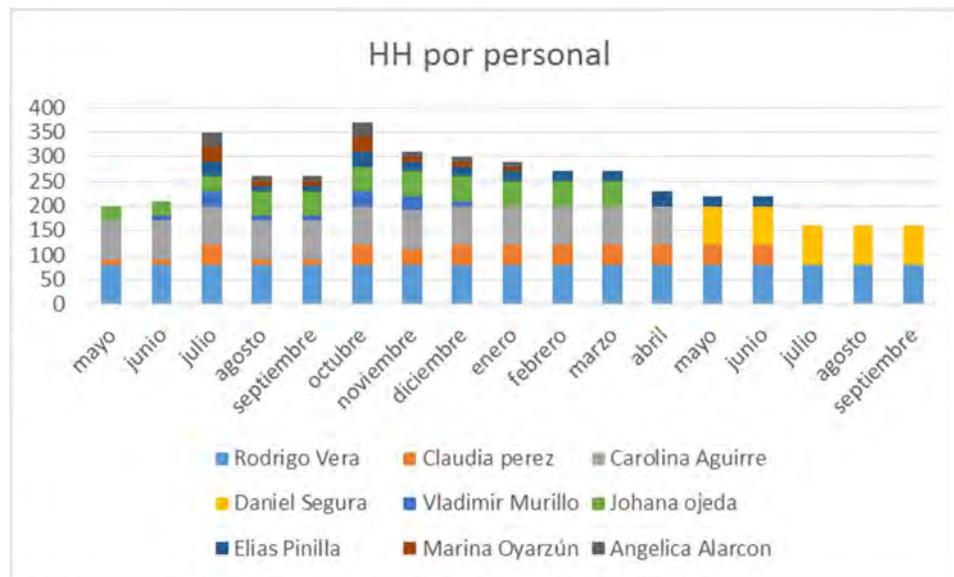
Chilean marine mussels. Bull Environ Contam Toxicol. 71:1167-1174.



9. HORAS HOMBRE

Horas hombre asignadas al proyecto por persona y por actividad

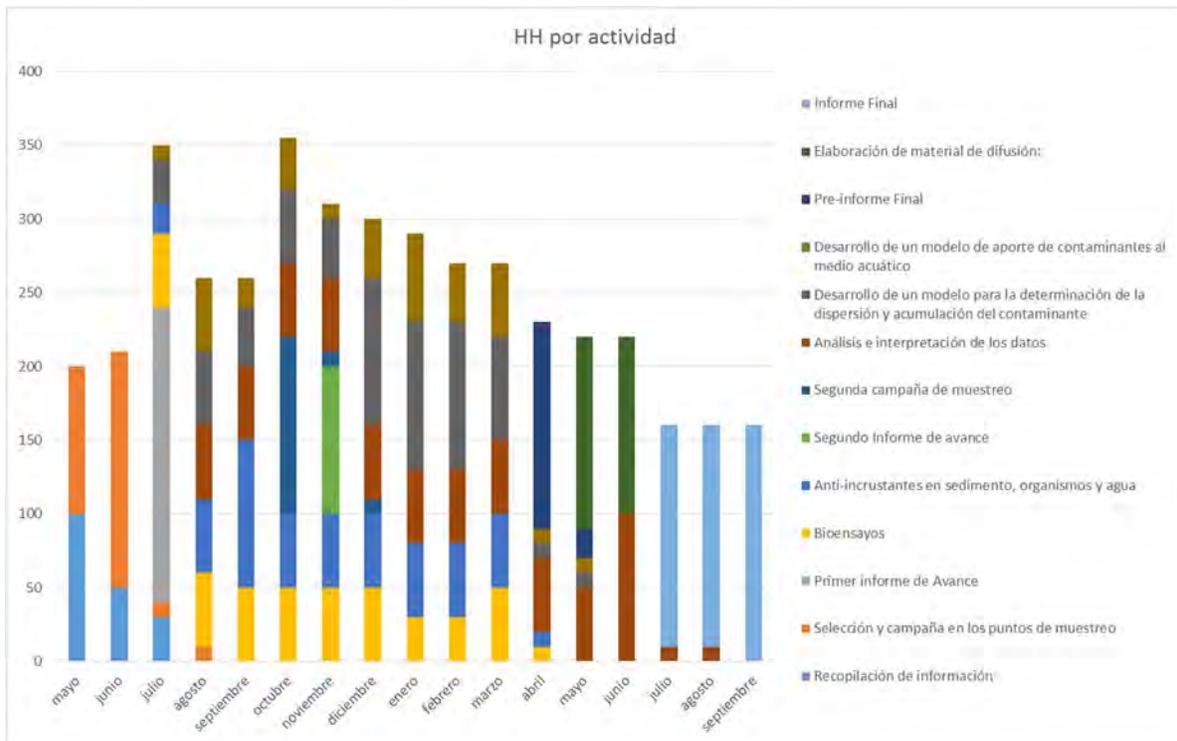
Personal	MESES																
	mayo	junio	julio	agosto	septiembre	octubre	noviembre	diciembre	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	agosto	septiembre
Rodrigo Vera	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
Claudia perez	10	10	40	10	10	40	30	40	40	40	40	40	40	40	0	0	0
Carolina Aguirre	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	0	0	0	0	0
Daniel Segura	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	80	80	80	80	80
Vladimir Murillo	0	10	30	10	10	30	30	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Johana ojeda	30	30	30	50	50	50	50	50	50	50	50	0	0	0	0	0	0
Elias Pinilla	0	0	30	10	10	30	20	20	20	20	20	30	20	20	0	0	0
Manna Oyarzún	0	0	30	10	10	30	10	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0
Angelica Alarcon	0	0	30	10	10	30	10	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0
total	200	210	350	260	260	370	310	300	290	270	270	230	220	220	160	160	160





INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISIÓN INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA

ACTIVIDAD	MESES																	
	mayo	junio	julio	agosto	septiembre	octubre	noviembre	diciembre	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	agosto	septiembre	
Recopilación de información	100	50	30															
Selección y campaña en los puntos de muestreo	100	160	10	10														
Primer informe de Avance			200															
Bioensayos			50	50	50	50	50	50	30	30	50	10						
Anti-incrustantes en sedimento, organismos y agua			20	50	100	50			50	50	50	10						
Segundo Informe de avance							100											
Segunda campaña de muestreo						120	10	10										
Análisis e interpretación de los datos				50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	100	10	10		
Desarrollo de un modelo para la determinación de la dispersión y acumulación del contaminante			30	50	40	50	40	100	100	100	70	10	10					
Desarrollo de un modelo de aporte de contaminantes al medio acuático			10	50	20	35	10	40	60	40	50	10	10					
Pre-informe Final												140	20					
Elaboración de material de difusión:													130	120				
Informe Final																150	150	160
total	200	210	350	260	260	355	310	300	290	270	270	230	220	220	160	160	160	



Actividades realizadas por el personal:

Rodrigo Vera: Recopilación de información, búsqueda de bibliografía, selección de los sitios de muestreo, revisión y subcontratación de bioensayos, coordinación general, redacción de informes.



Claudia Pérez: Recopilación de información, primer informe, segundo informe, prefinal y final.

Daniel Segura: Recopilación de información, búsqueda bibliográfica, informe prefinal y final.

Carolina Aguirre: Recopilación de información, búsqueda bibliográfica, selección y campaña en los puntos de muestreo, informe de avance.

Vladimir Murillo: Recopilación de información, selección y campaña en los puntos de muestreo, logística de muestreo.

Johana Ojeda: Recopilación de información, selección y campaña en los puntos de muestreo, informe de avance.

Elías Pinilla: Desarrollo de un modelo para la determinación de la dispersión y acumulación del contaminante, desarrollo de un modelo de aporte de contaminantes al medio acuático, primer informe de avance.

Marina Oyarzun: Selección y campaña en los puntos de muestreo, coordinación de muestreos de pinturas de talleres de redes y empresas salmoneras.

Angélica Alarcón: Selección y campaña en los puntos de muestreo, coordinación de muestreos con la empresa de cultivo de salmónidos (Marine Harvest).



FIGURAS



Figura 1. Localizaci3n del centro de cultivo Chequian, en Chilo3 central.

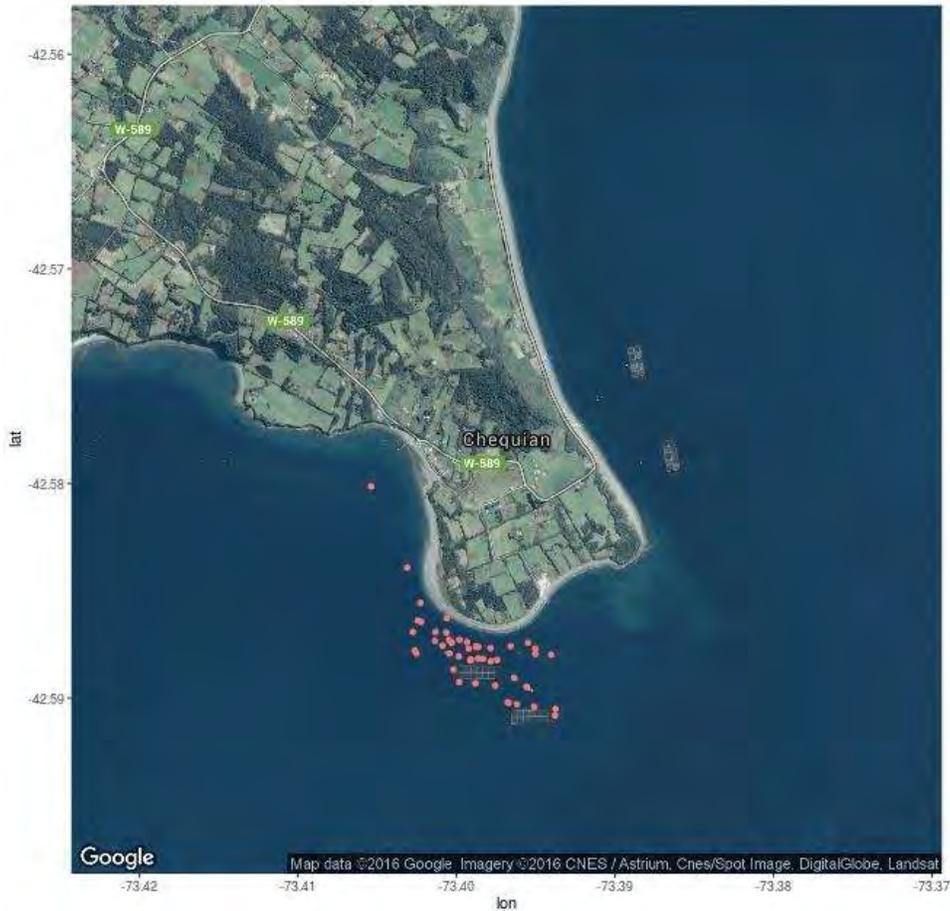


Figura 2. Ubicaci3n de lances exploratorios (47) para muestreo de sedimento.



Figura 3. Ubicaci3n de puntos de muestreo efectivos (16) de sedimento en centro Chequian.

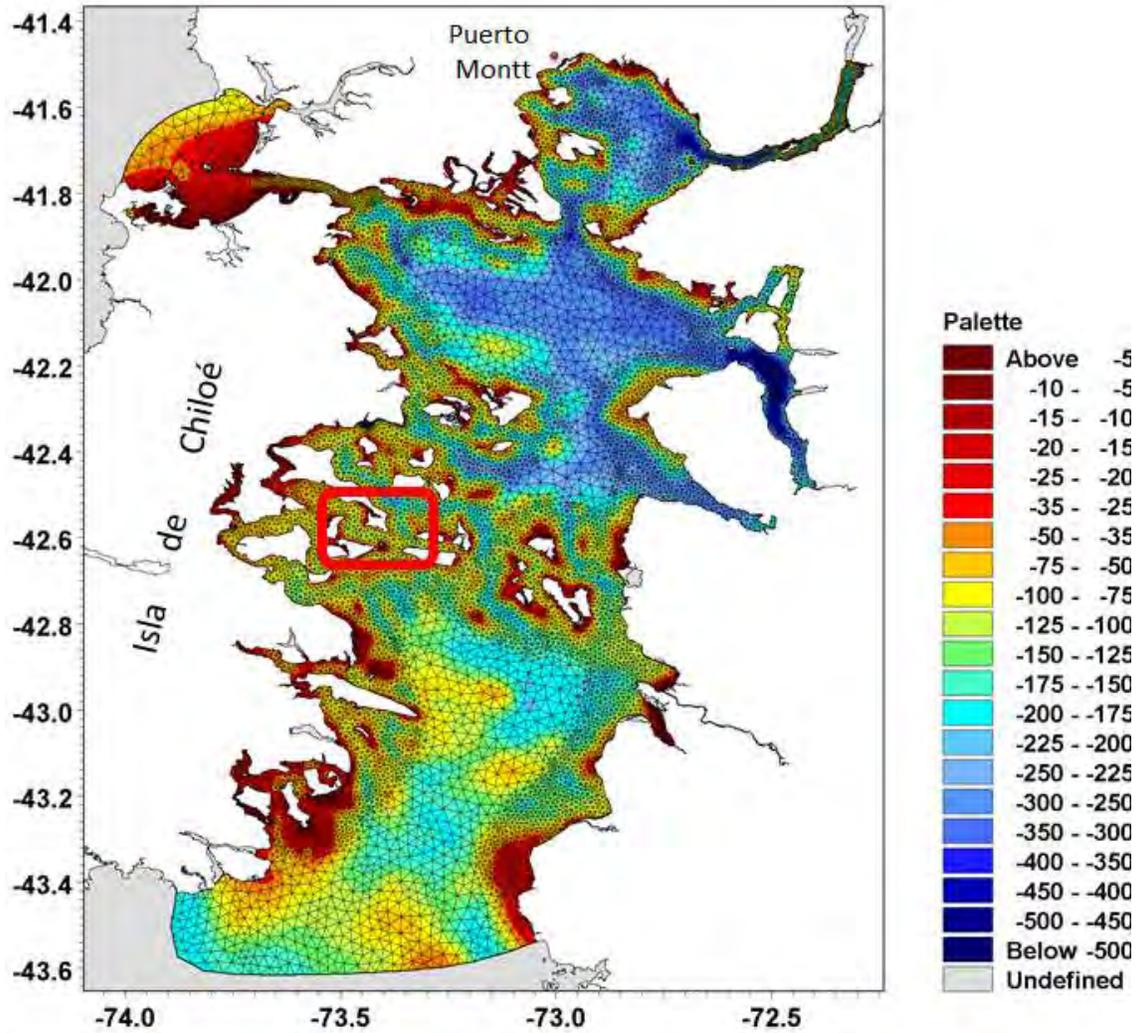


Figura 4. Dominio regional Chiloé del modelo hidrodinámico, los colores representan la batimetría. El cuadrado rojo representa el área donde se implementa modelo local de alta resolución.

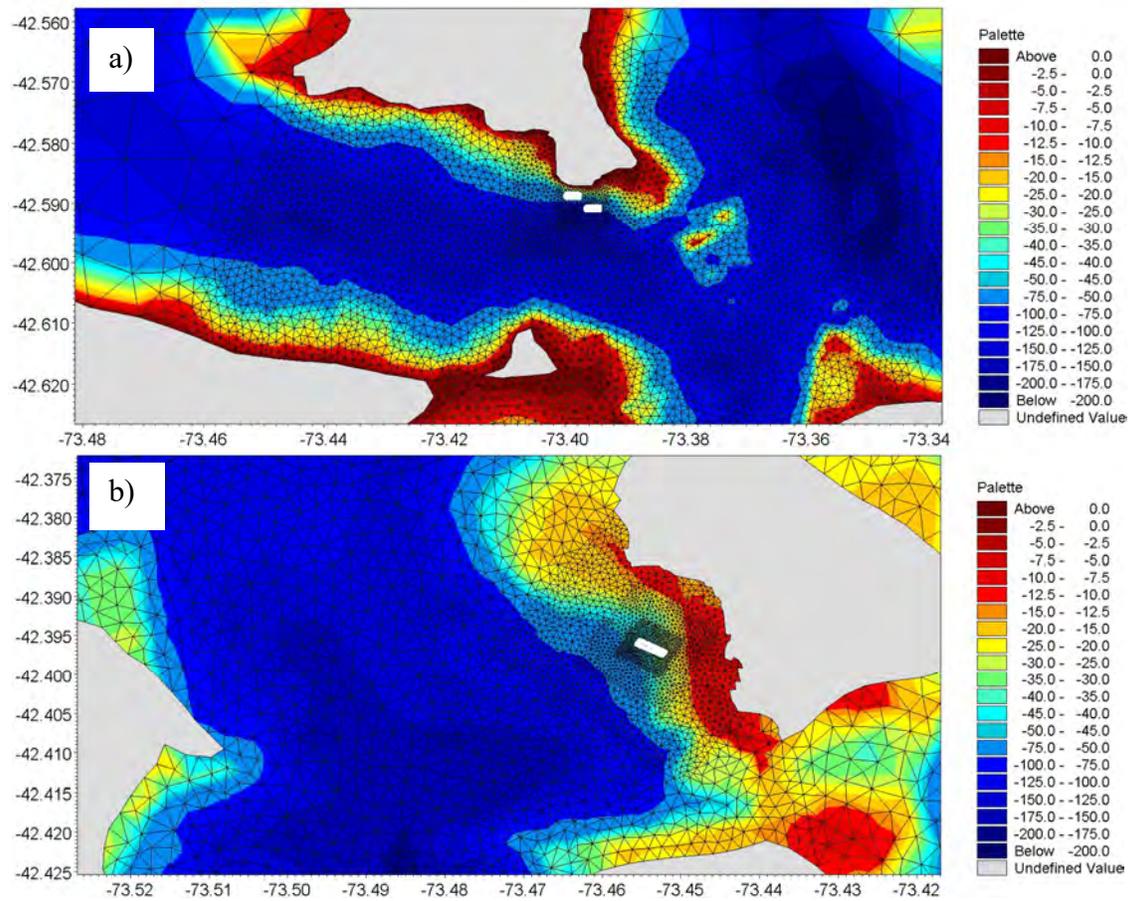


Figura 5. a) Dominio de alta resoluci3n en Chilo3 central y b) detalle en Chequian con malla de elementos triangulares. Rect3ngulos negros indican ubicaci3n de las balsas jaulas de salm3nidos.

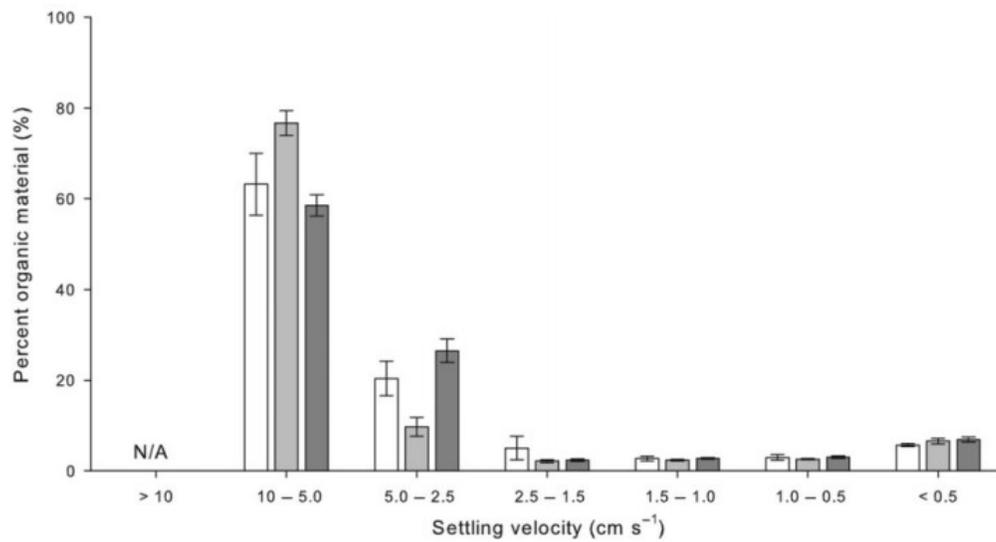


Figura 6: Velocidad media de sedimentaci3n de las partculas fecales de salm3n del atl3ntico para tres clases de tama1o diferentes de peces (600 g, columna blanca, 1500 g columna gris, 3500 g columna gris oscuro) de Bannister 2016.



Figura 7. Esporas germinadas en agua control, de aspecto normal, característico de *Macrocystis pyrifera*. Largo promedio de la estructura: 13,7 μm .

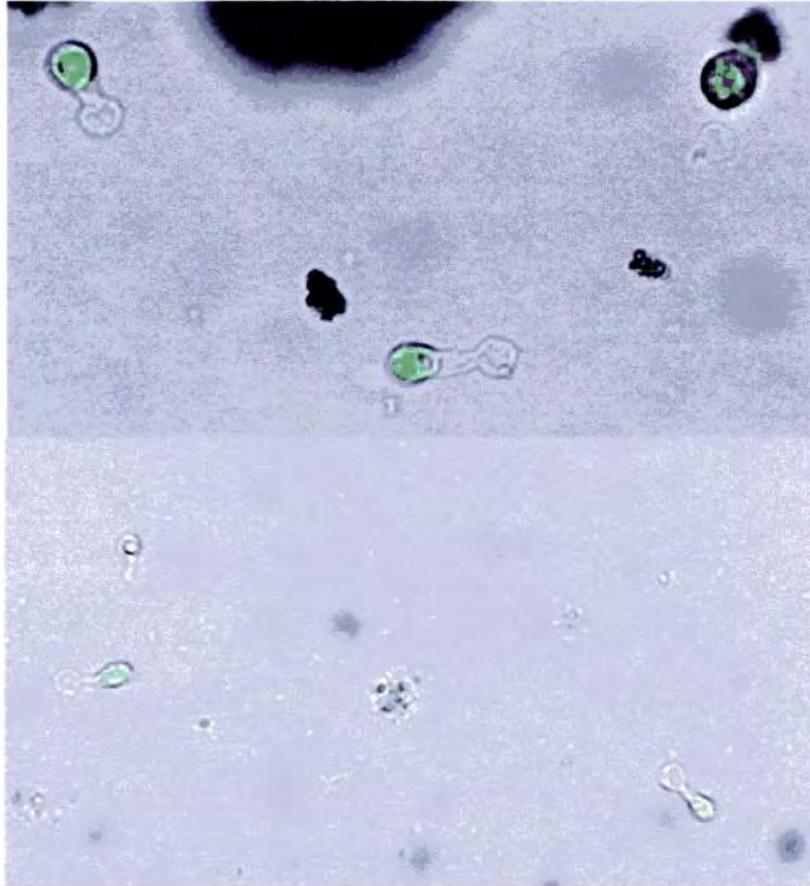


Figura 8. Esporas germinadas en agua con Zn con tubo de germinación corto, consideradas normales.

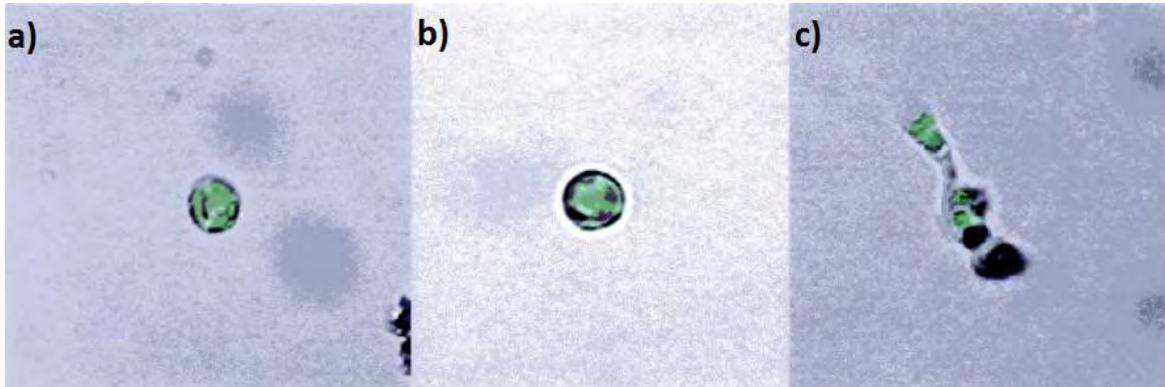


Figura 9. Esporas germinadas en agua con Zn, consideradas anormales, carentes de tubo de germinación (a, b) y de color desteñido (c).

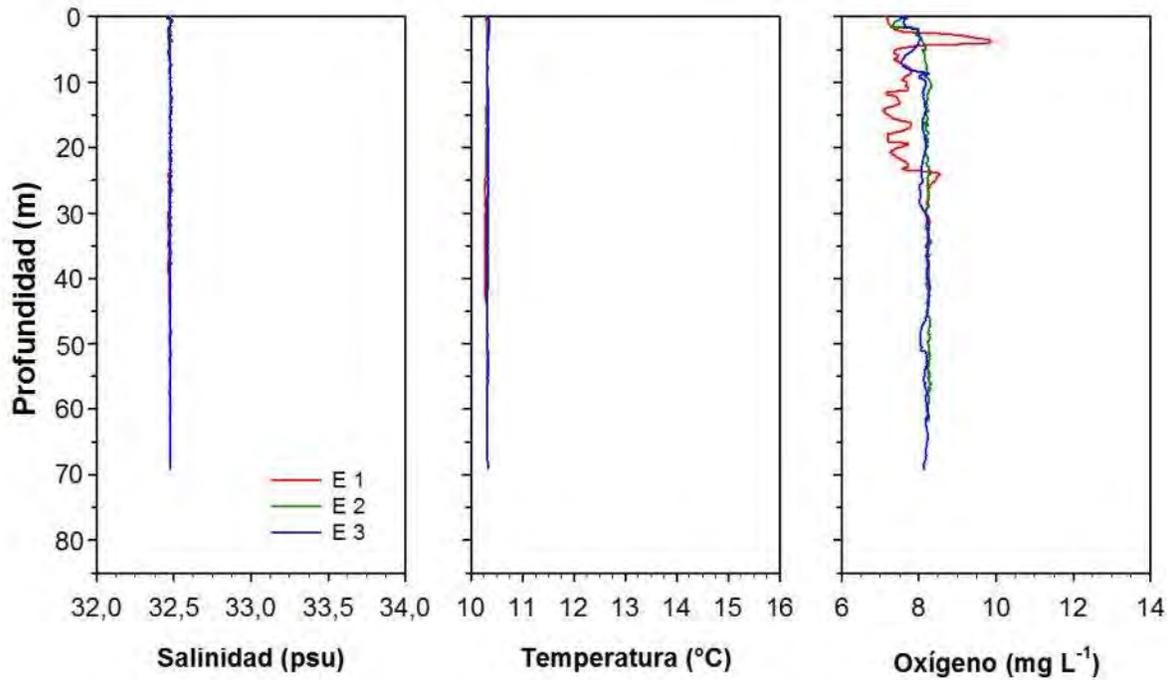


Figura 10. Perfiles de salinidad (psu), temperatura (°C) y oxígeno (mg/L) en columna de agua para estaciones 1, 2 y 3, en septiembre del 2015, en el centro Chequian.

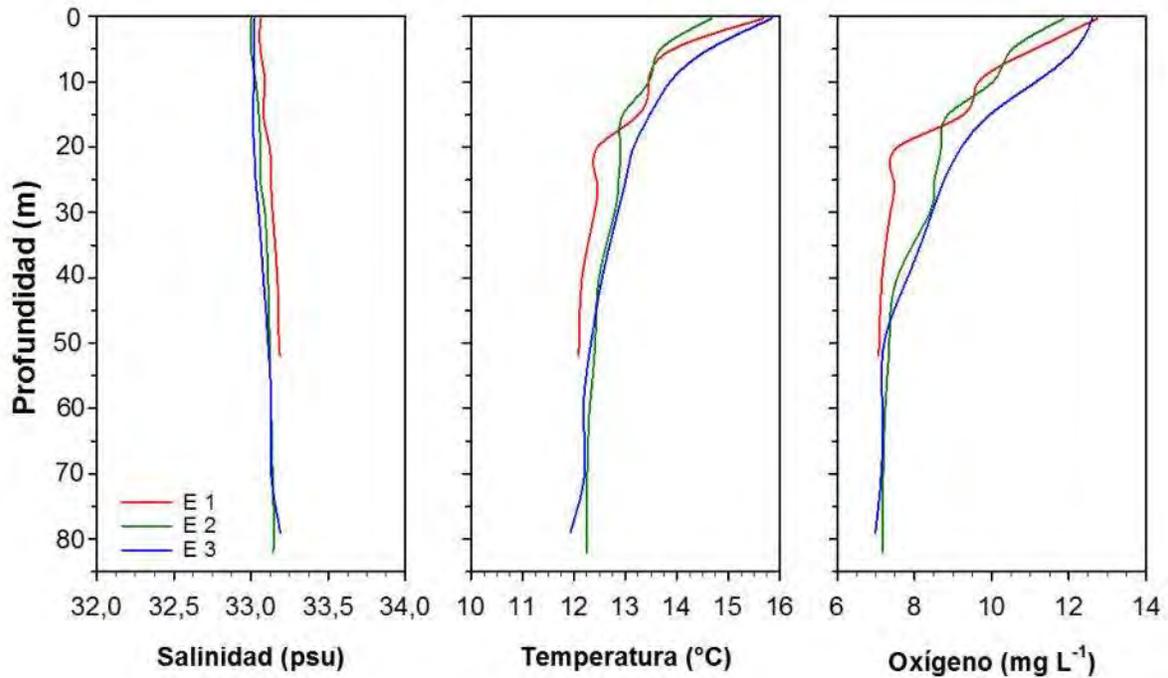


Figura 11. Perfiles de salinidad (psu), temperatura (°C) y oxígeno (mg/L) en columna de agua para estaciones 1, 2 y3, en Enero del 2015, en el centro Chequian.

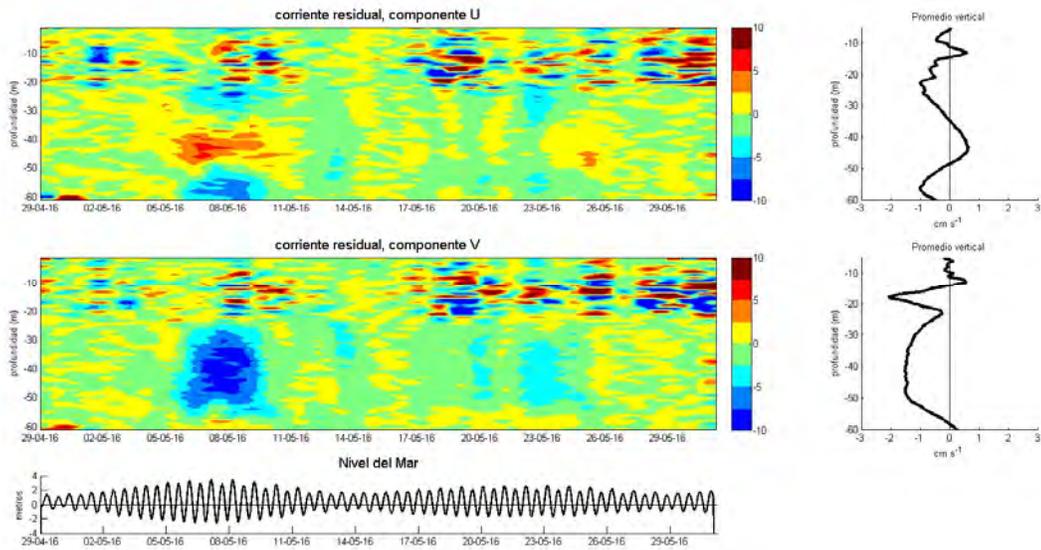


Figura 12. Mapa de contornos de la variabilidad temporal, y promedios verticales para las componentes U y V de la corriente residual observada en Chequian. (Abajo) Nivel del mar observado por sensor instalado en estructura de ADCP para mismo periodo.

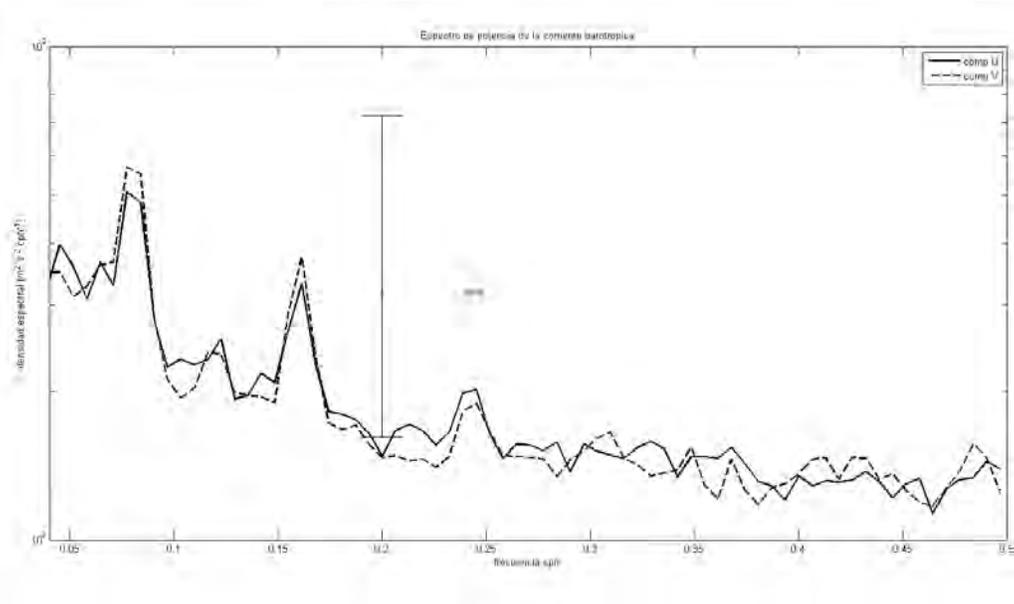


Figura 13. Espectros de energa calculados con 10 grados de libertad por el m3todo de Welch para las componentes U y V de la corriente barotr3pica observada en Chequian.

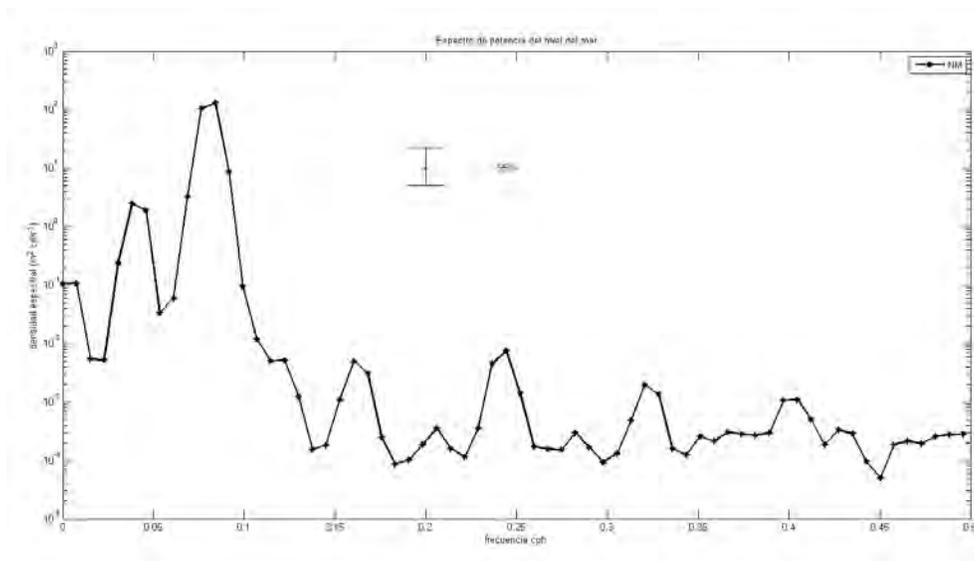


Figura 14. Espectro de energa calculado con 10 grados de libertad por el m3todo de Welch para el nivel del mar observado en Chequian.

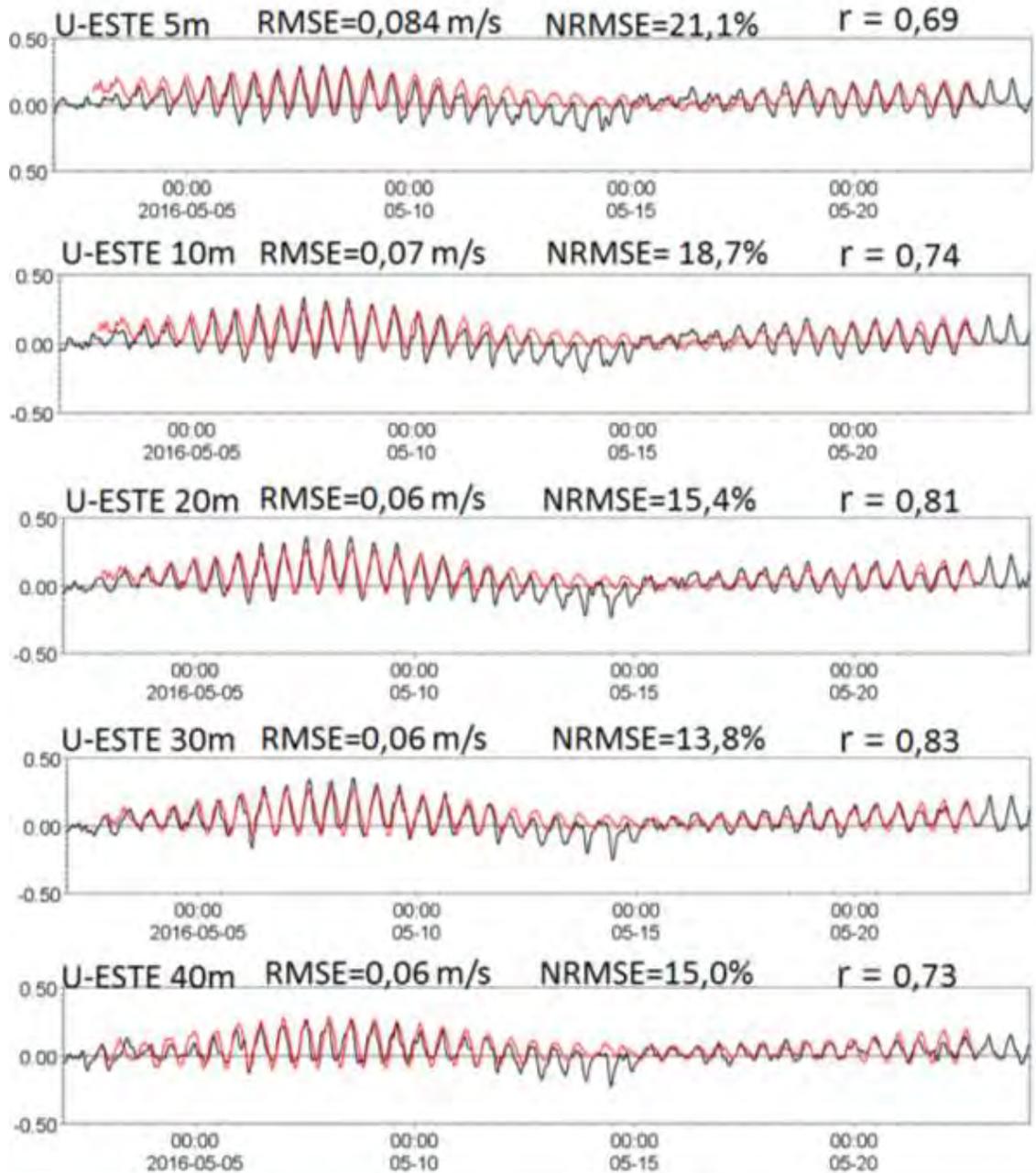


Figura 15. Componente U-ESTE de la corriente a 5, 10, 20, 30 y 40m. de profundidad del modelo MIKE3 (rojo) y la observaci3n (negro) en Chequian. Junto a las series de tiempo aparecen los 3ndices estad3sticos RMSE (ra3z de error medio cuadr3tico), NRMSE (RMSE normalizado) y la correlaci3n (r).

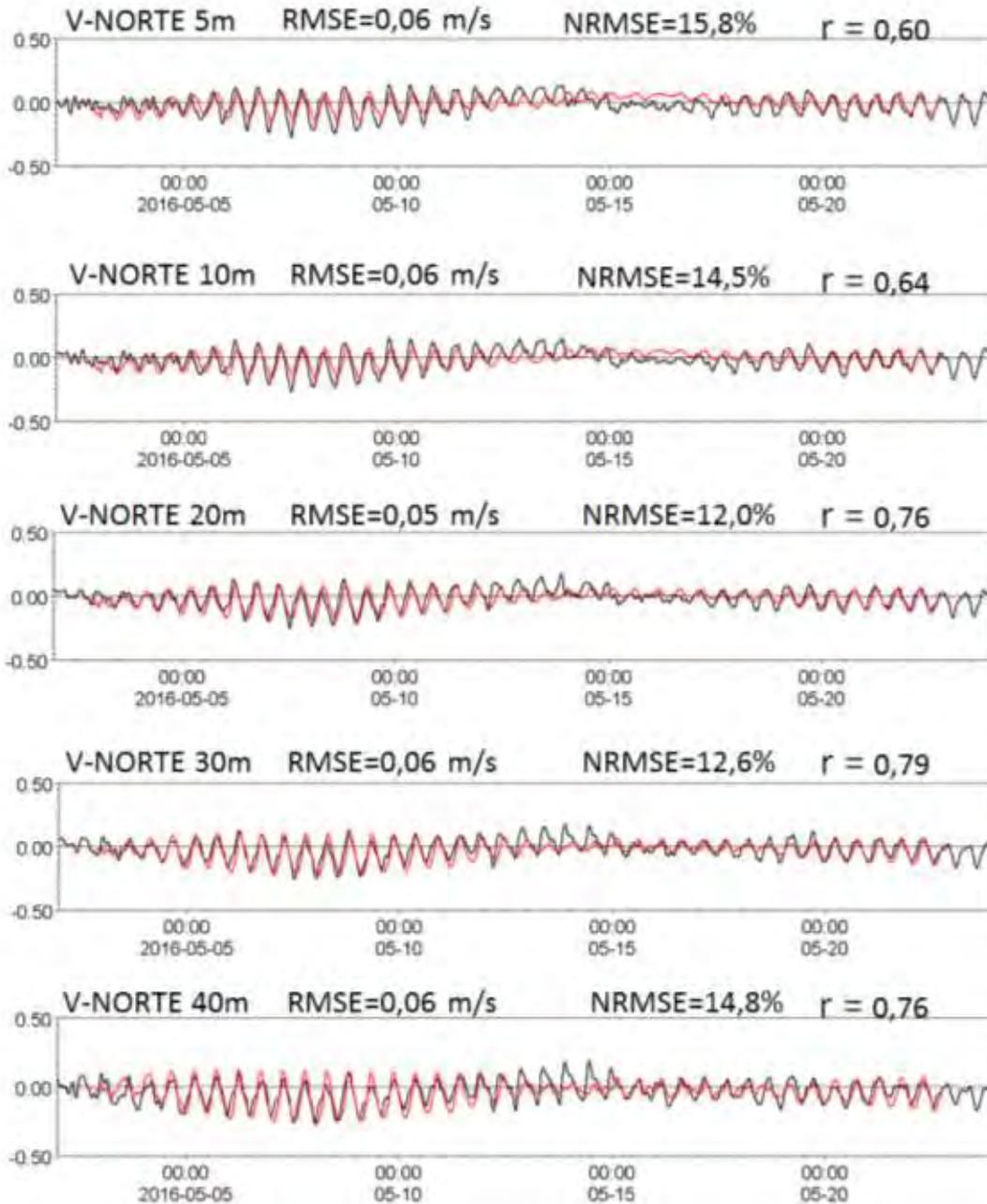


Figura 16: Componente V-NORTE de la corriente a 5, 10, 20, 30 y 40m. de profundidad del modelo MIKE3 (rojo) y la observaci3n (negro) en Chequian. Junto a las series de tiempo aparecen los 3ndices estad3sticos RMSE (ra3z de error medio cuadr3tico), NRMSE (RMSE normalizado) y la correlaci3n (r).

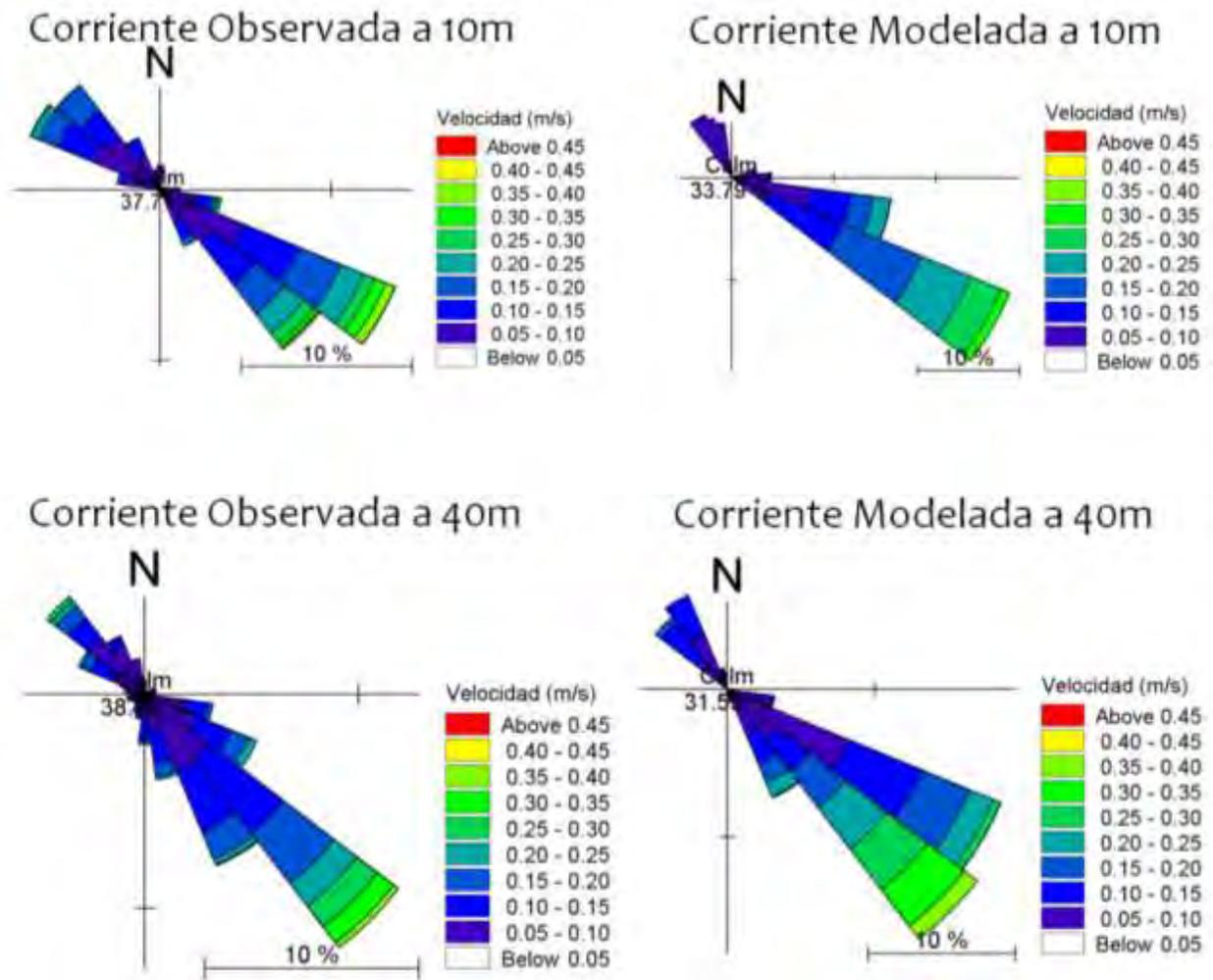


Figura 17: Rosas de corrientes a 10m observada (arriba izquierda) y modelada (arriba izquierda) y corriente a 40 m observada (abajo izquierda) y modelada (abajo derecha).

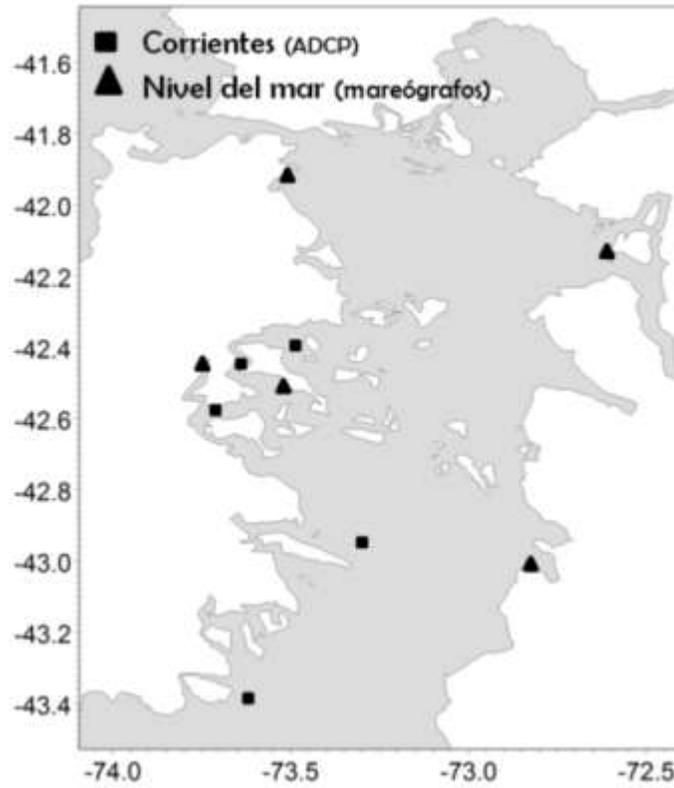


Figura 18. Mapa con la ubicaci3n de los puntos de evaluaci3n de modelo hidrodinámico.

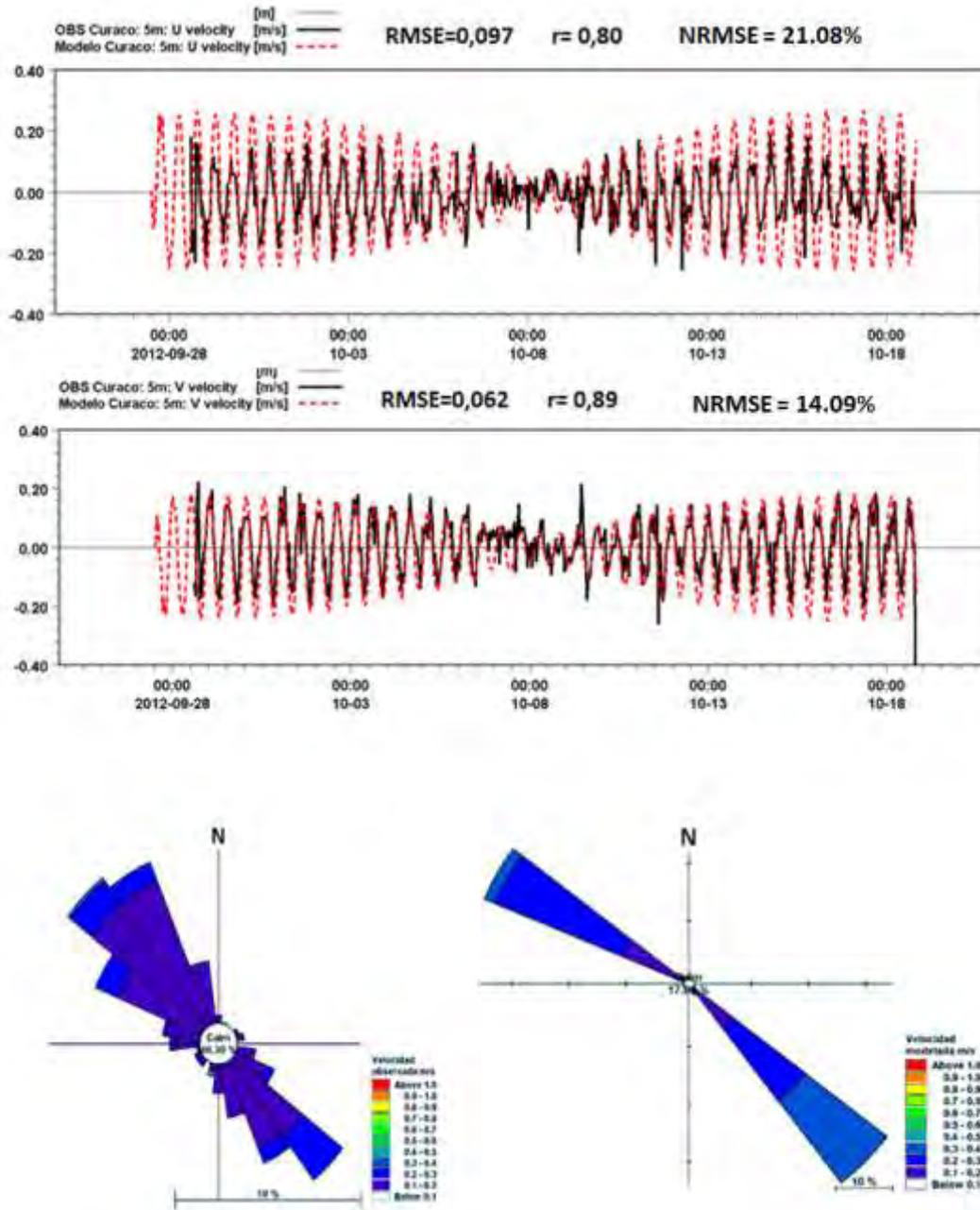


Figura 19. Componente u_este y v_norte de la corriente a 5m del modelo MIKE3 (rojo) y la observaci3n (negro) en Curaco de V3lez (Canal Dalcahue). Abajo, rosas de corrientes a 5m observada (izquierda) y modelada por MIKE3 (derecha). Junto a las series de tiempo aparecen los 3ndices estad3sticos RMSE (ra3z de error medio cuadr3tico) y la correlaci3n (r).

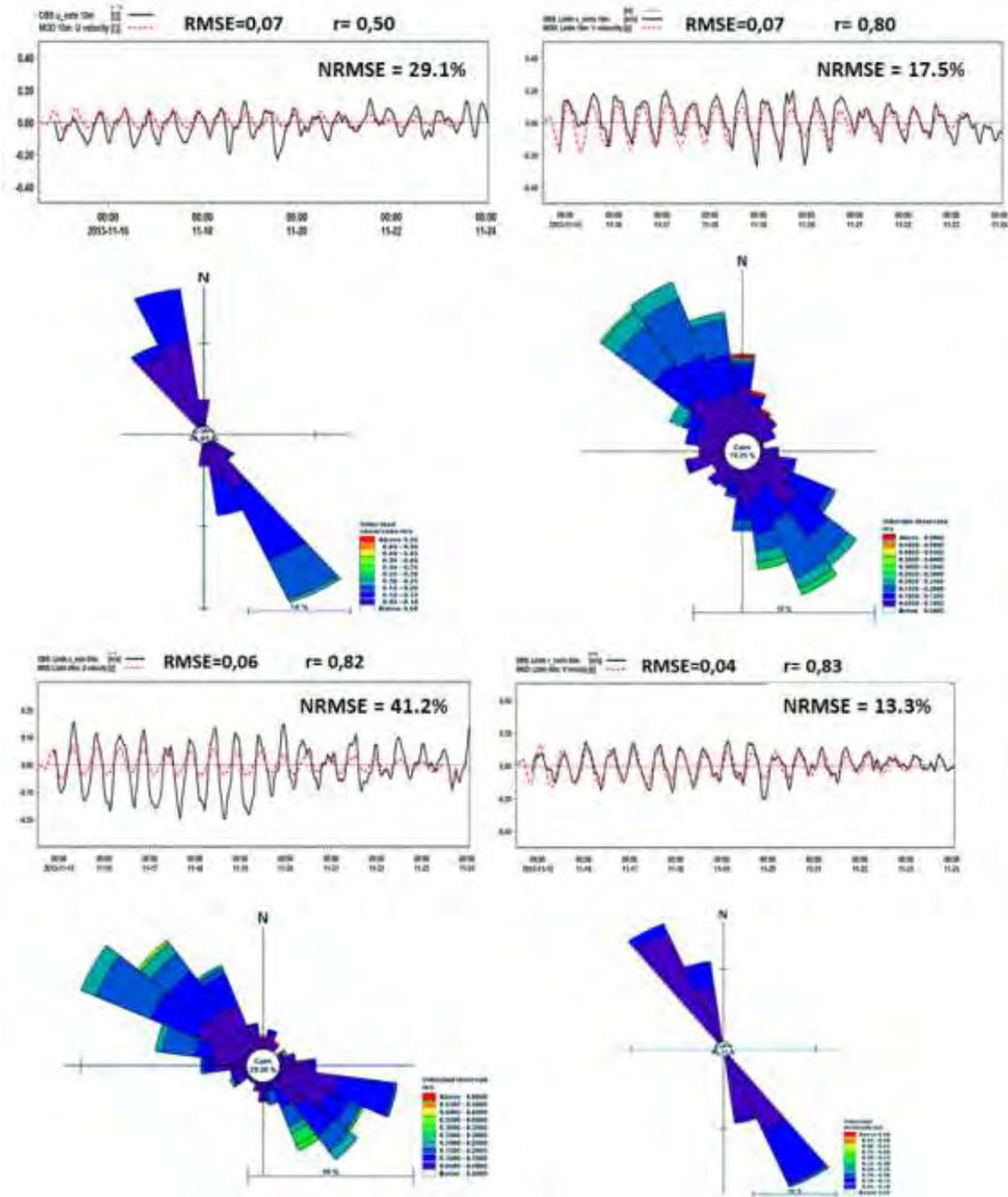


Figura 20. Componente u_{este} y v_{norte} de la corriente a 10 y 40 m del modelo MIKE3 (rojo) y la observaci3n (negro) junto a sus respectivas rosas de corrientes observada (izquierda) y modelada (derecha) en Isla Linlin. Junto a las series de tiempo aparecen los 3ndices estad3sticos RMSE (ra3z de error medio cuadr3tico) y la correlaci3n (r).

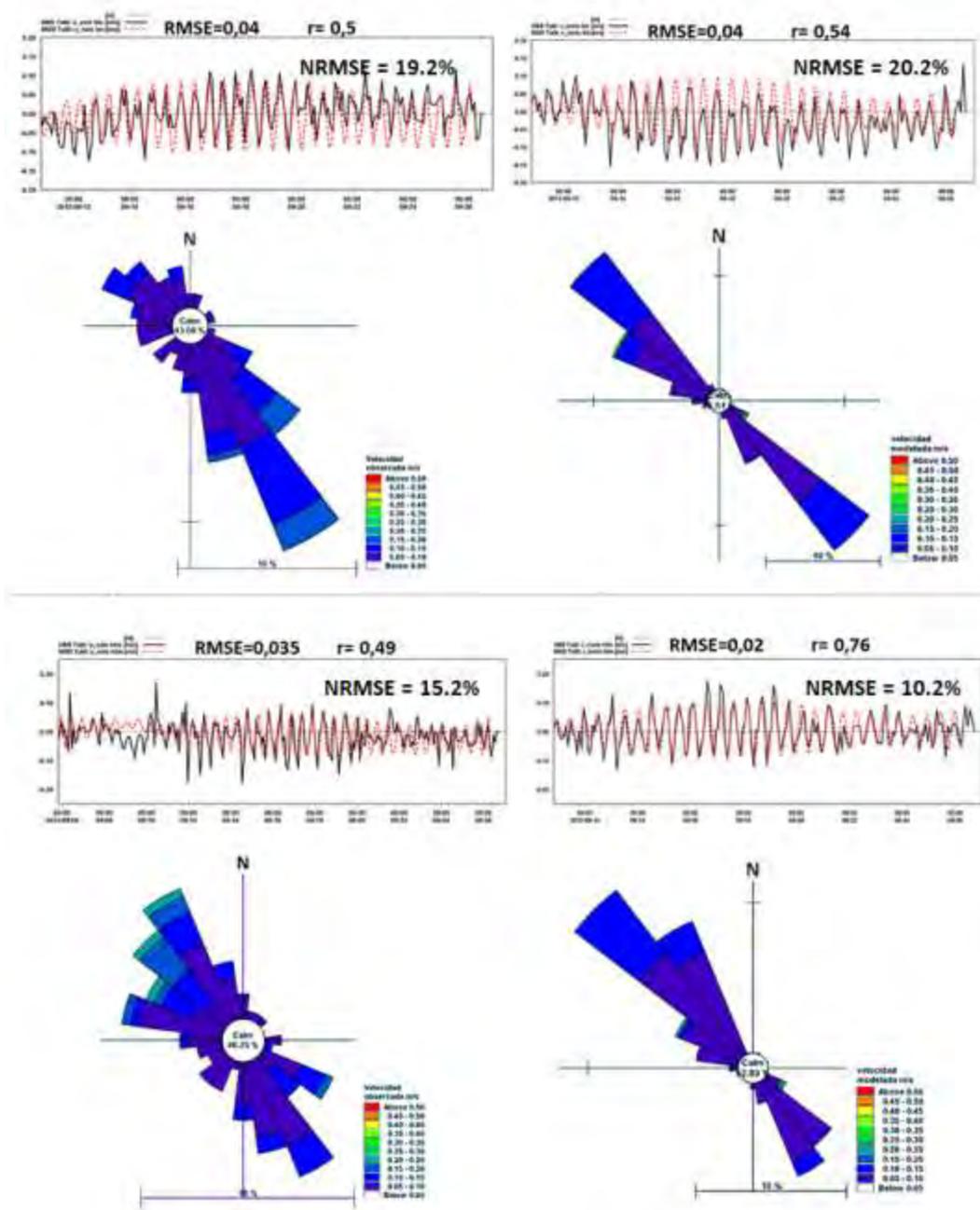


Figura 21. Componente u_{este} y v_{norte} de la corriente a 5 y 40 m del modelo MIKE3 (rojo) y la observaci3n (negro) junto a sus respectivas rosas de corrientes observada (izquierda) y modelada (derecha) en Pta. Tutil . Junto a las series de tiempo aparecen los 3ndices estad3sticos RMSE (ra3z de error medio cuadr3tico) y la correlaci3n (r).

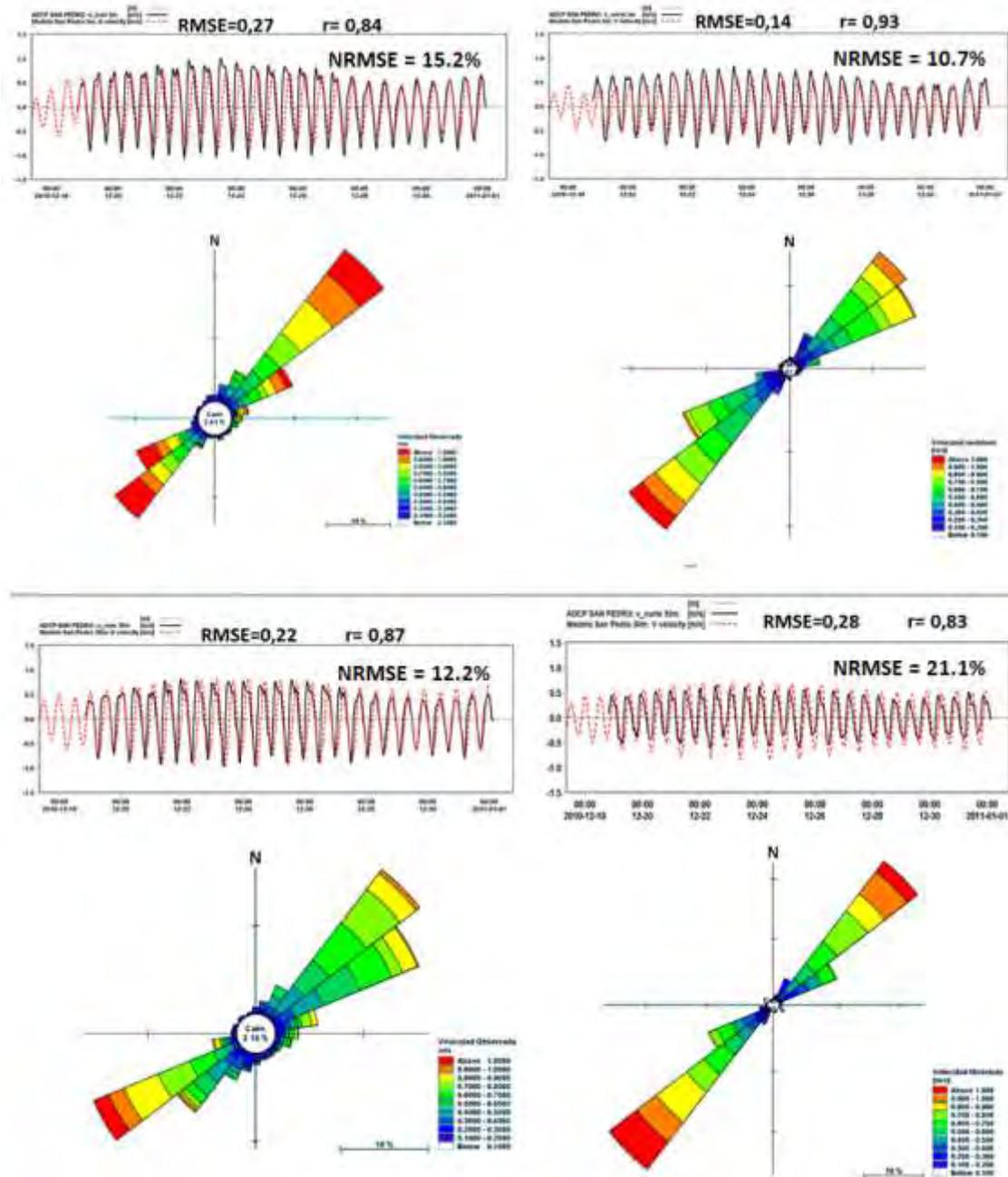


Figura 22.Componente u_{este} y v_{norte} de la corriente a 5 y 30 m del modelo MIKE3 (rojo) y la observaci3n (negro) junto a sus respectivas rosas de corrientes observada (izquierda) y modelada (derecha) en isla San Pedro. Junto a las series de tiempo aparecen los 3ndices estad3sticos RMSE (ra3z de error medio cuadr3tico) y la correlaci3n (r).

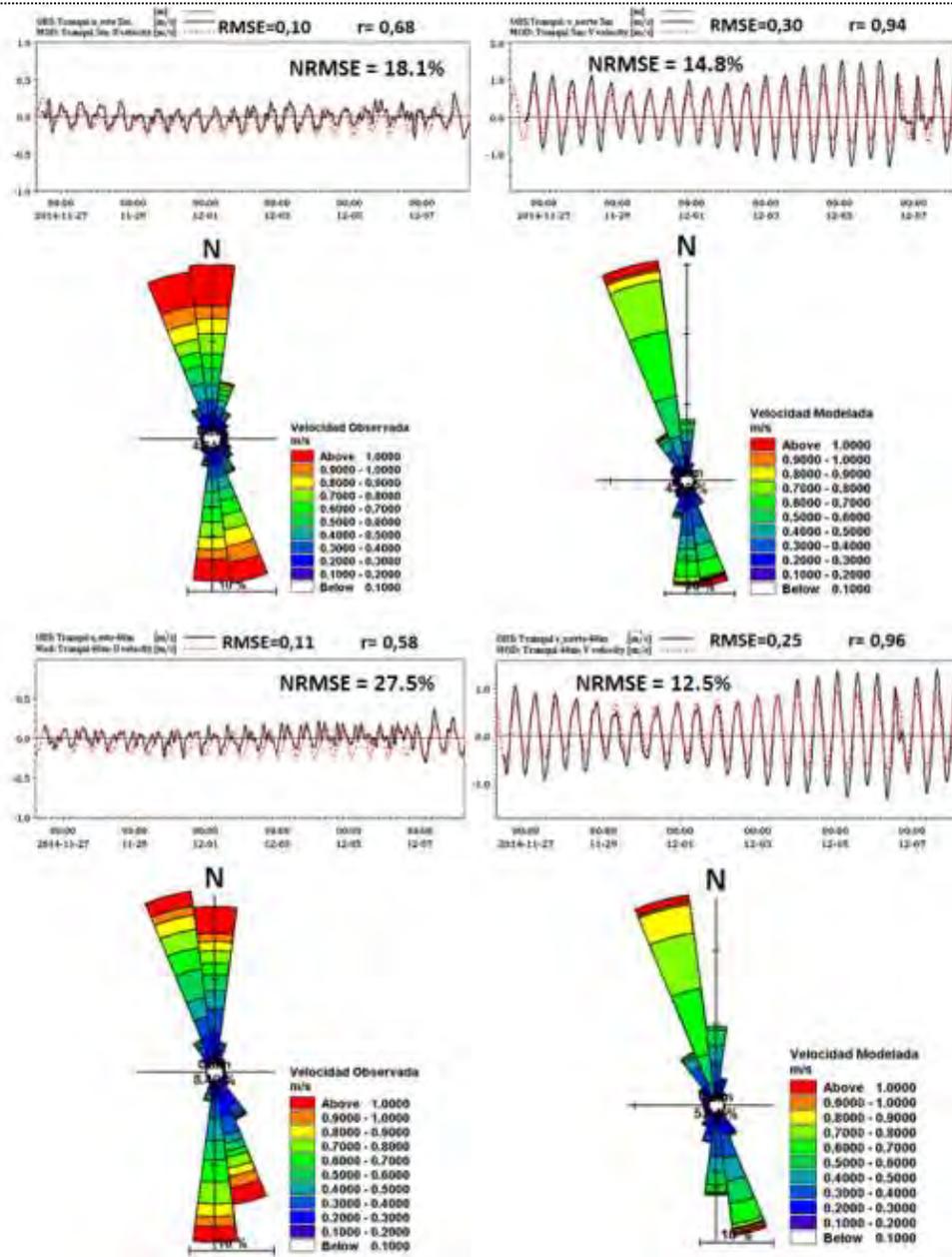


Figura 23. Componente u_{este} y v_{norte} de la corriente a 5 y 40 m del modelo MIKE3 (rojo) y la observaci3n (negro) junto a sus respectivas rosas de corrientes observada (izquierda) y modelada (derecha) en isla Tranqui. Junto a las series de tiempo aparecen los 3ndices estad3sticos RMSE (ra3z de error medio cuadr3tico) y la correlaci3n (r).

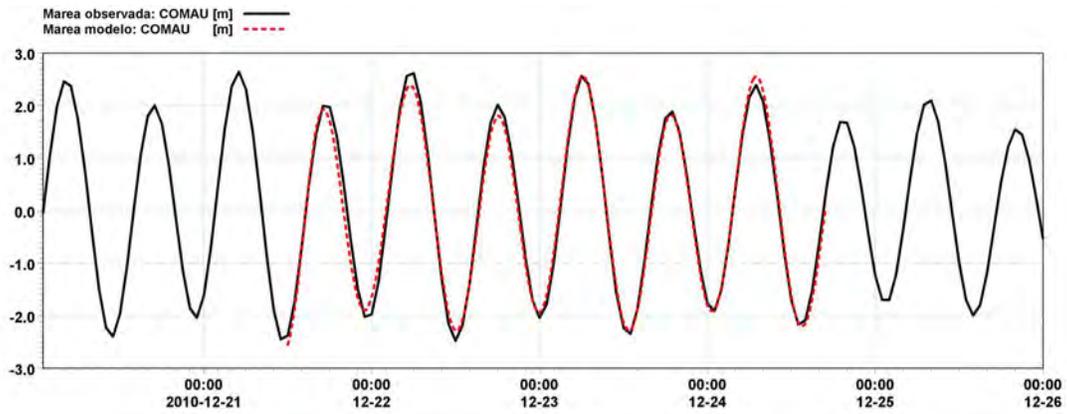


Figura 24. Series de nivel del mar observada (línea negra) y modelada (línea roja) en sector del fiordo Comau.

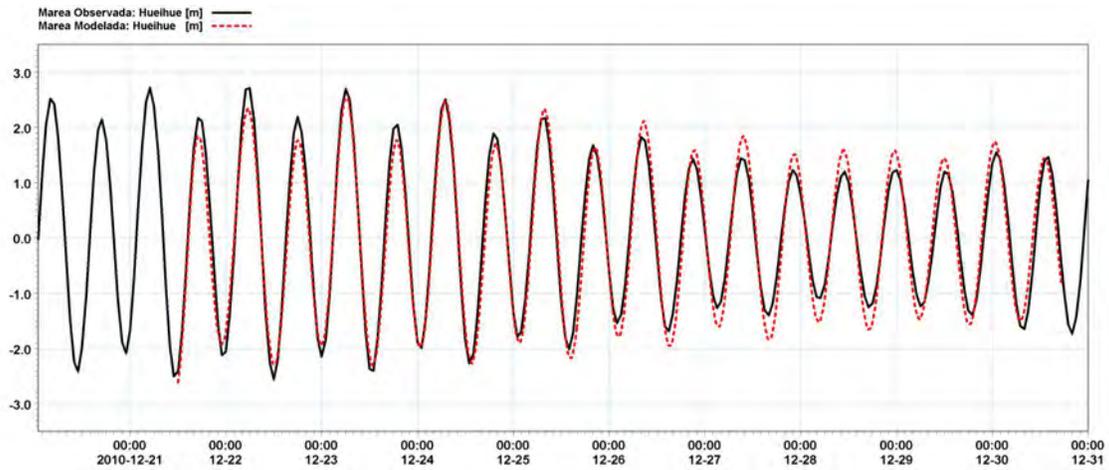


Figura 25. Series de nivel del mar observada (lnea negra) y modelada (lnea roja) en sector de Hueihue.

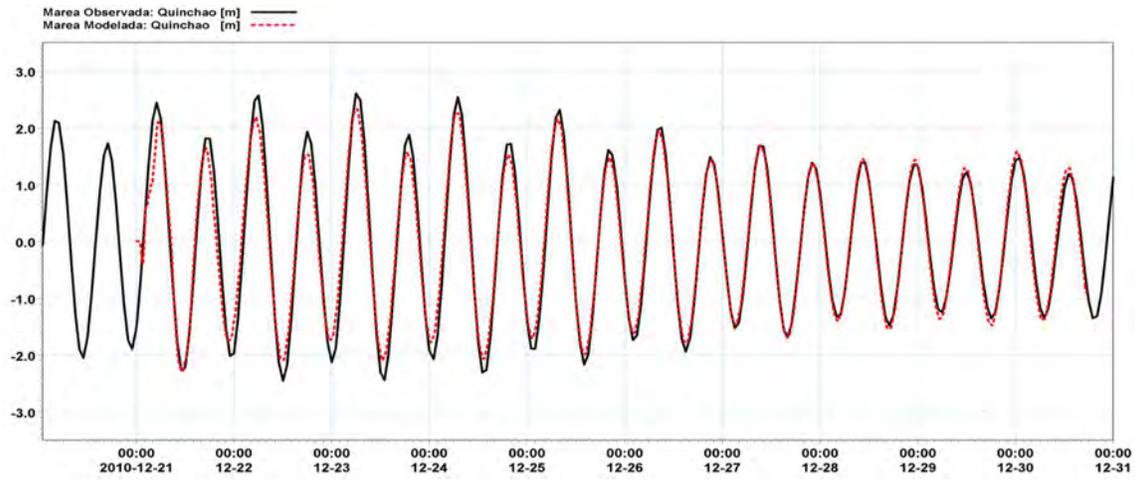


Figura 26. Series de nivel del mar observada (lnea negra) y modelada (lnea roja) en sector de Quinchao.

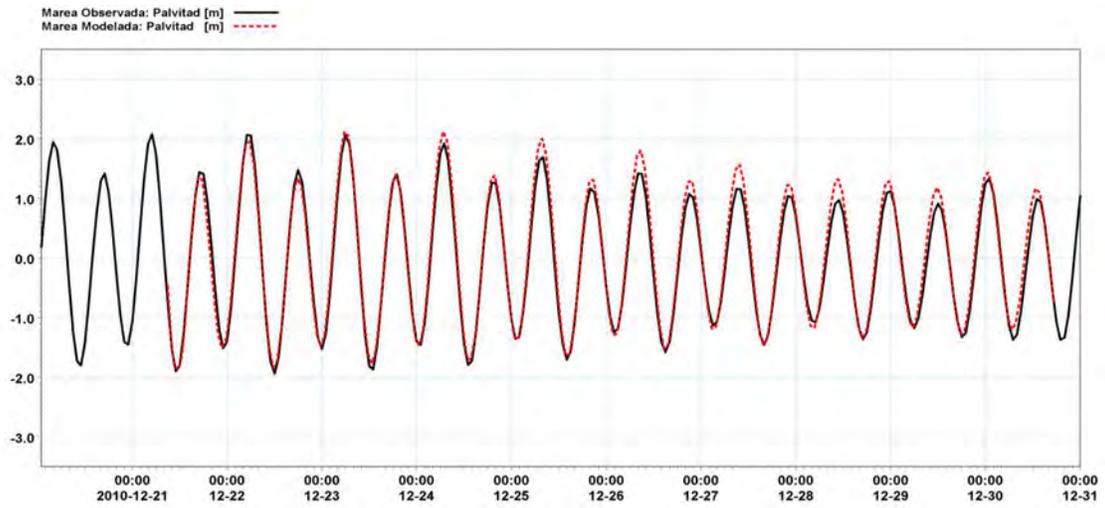


Figura 27. Series de nivel del mar observada (línea negra) y modelada (línea roja) en sector de Palvidad.

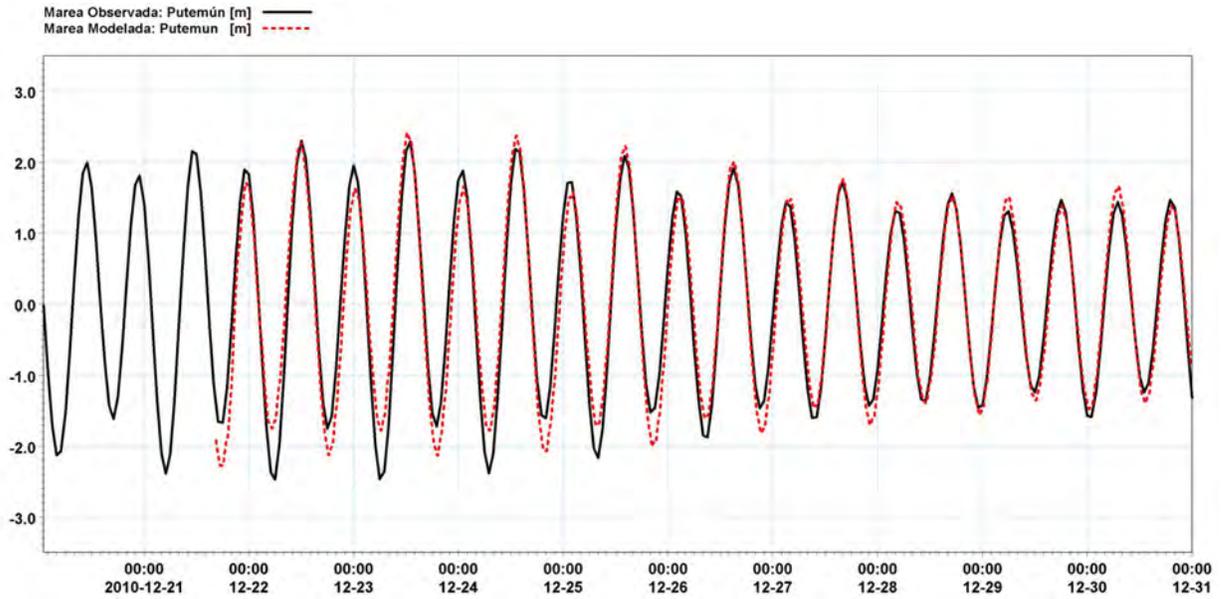


Figura 28. Series de nivel del mar observada (línea negra) y modelada (línea roja) en sector de Putemún.

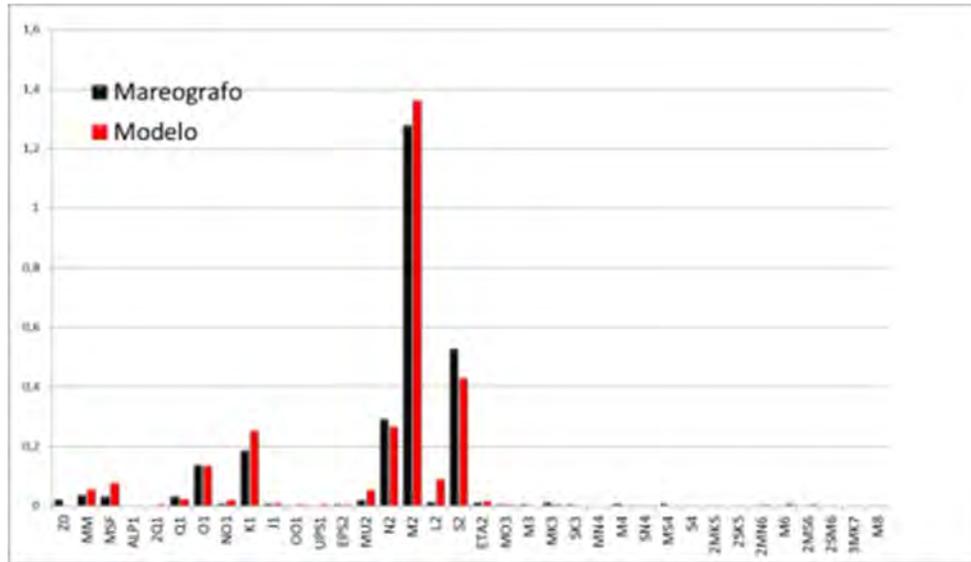


Figura 29. Constituyentes arm3nicas (amplitud) de la marea modelada (Rojo) y observada (negro) en estero Palvita.

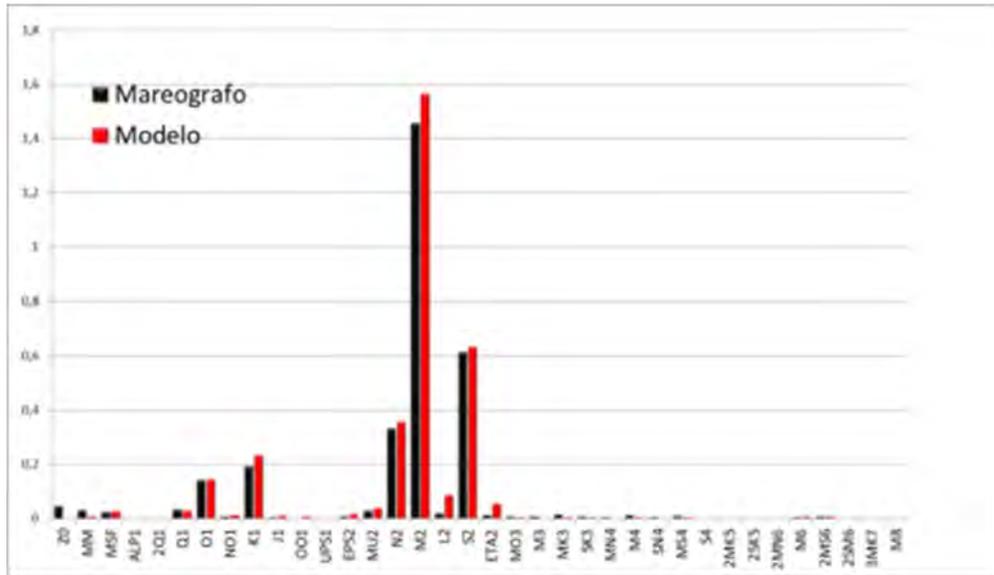


Figura 30. Constituyentes armónicas (amplitud) de la marea modelada (Rojo) y observada (negro) en Isla Quinchao.

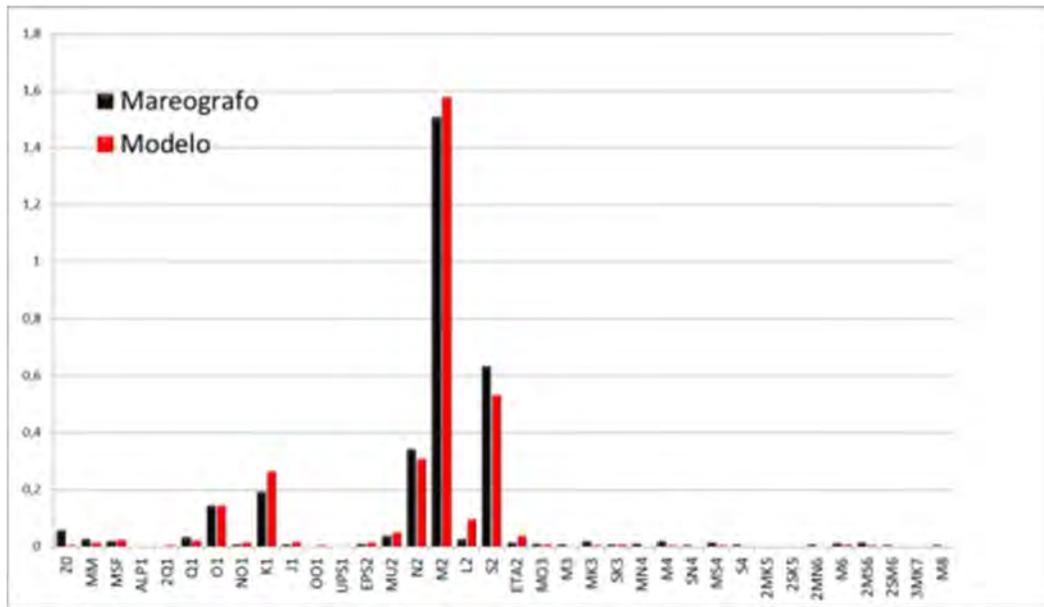


Figura 31. Constituyentes arm3nicas (amplitud) de la marea modelada (Rojo) y observada (negro) en Putem3n-fiordo Castro.

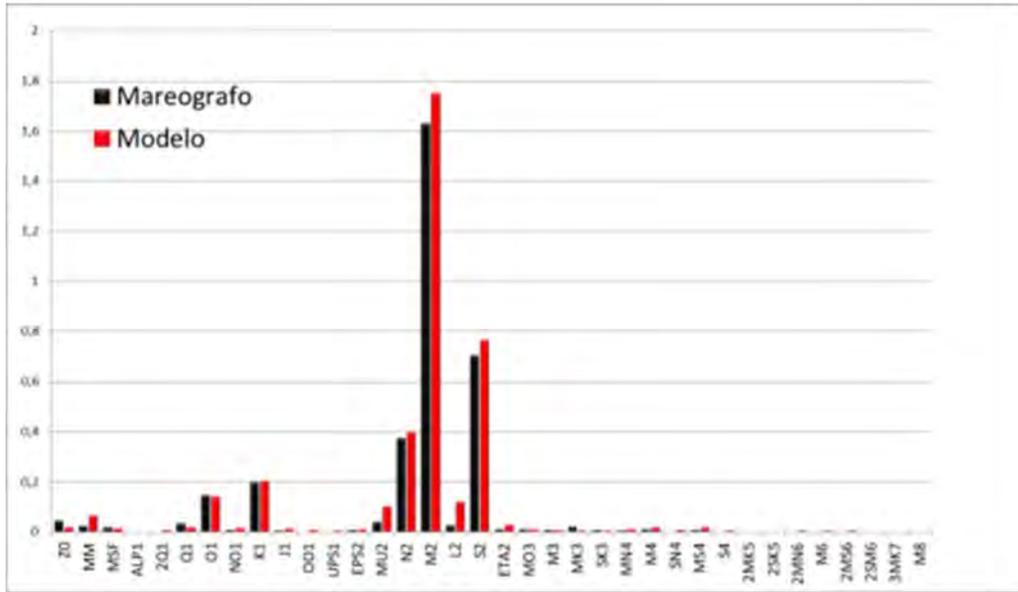


Figura 32. Constituyentes arm3nicas (amplitud) de la marea modelada (Rojo) y observada (negro) en Hueihue, bahía Manao.

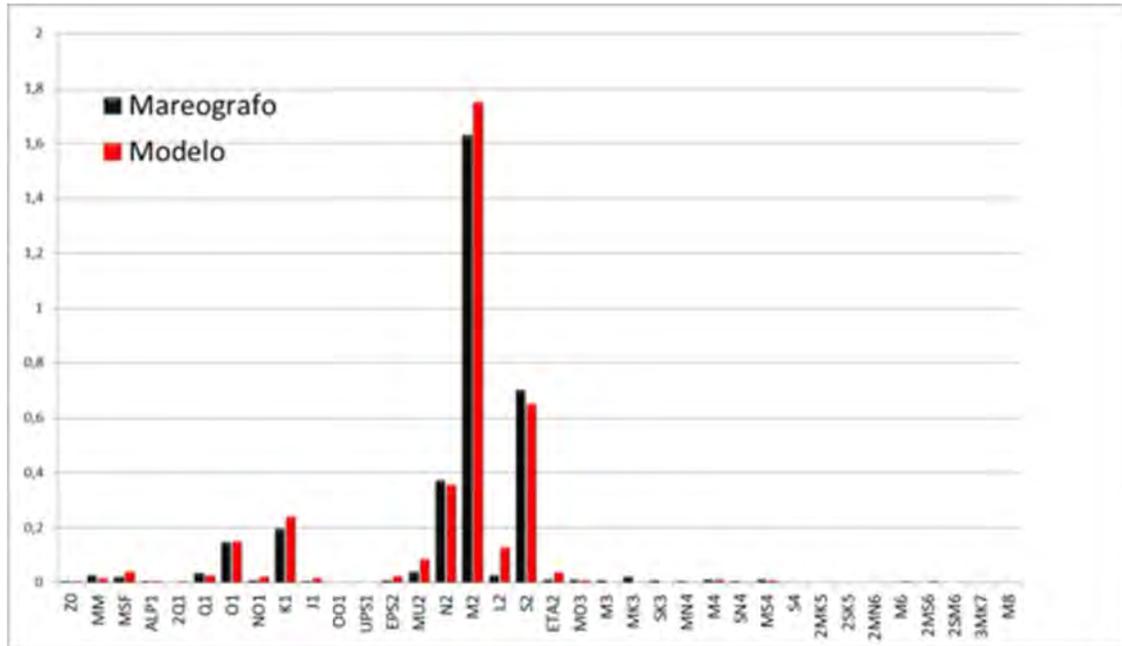


Figura 33. Constituyentes arm3nicas (amplitud) de la marea modelada (Rojo) y observada (negro) en boca fiordo Comau.

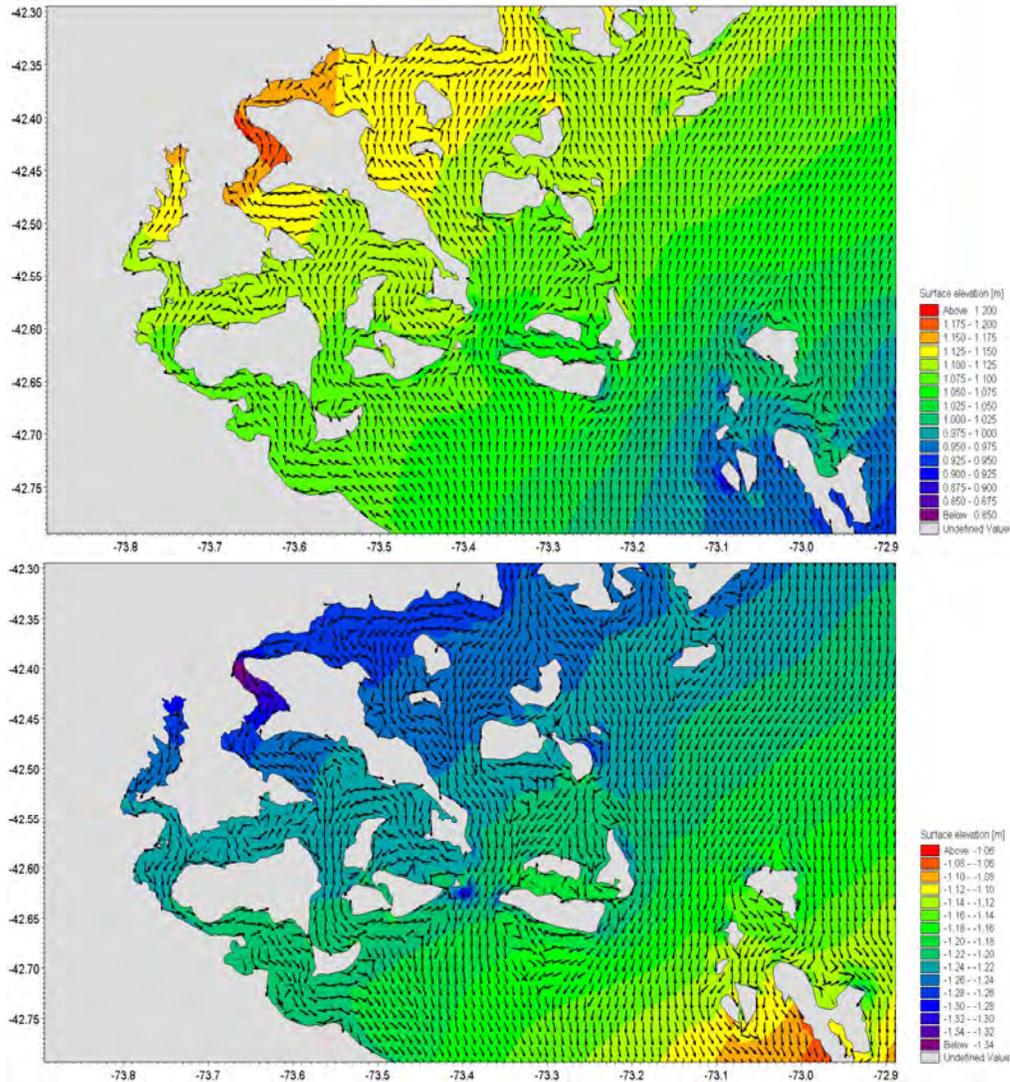


Figura 34: Patr3n de corrientes durante un periodo de sicigias en llenante (arriba) y vaciante (abajo), en el archipi3lago de Chilo3, en colores se distingue el nivel del mar (m.).

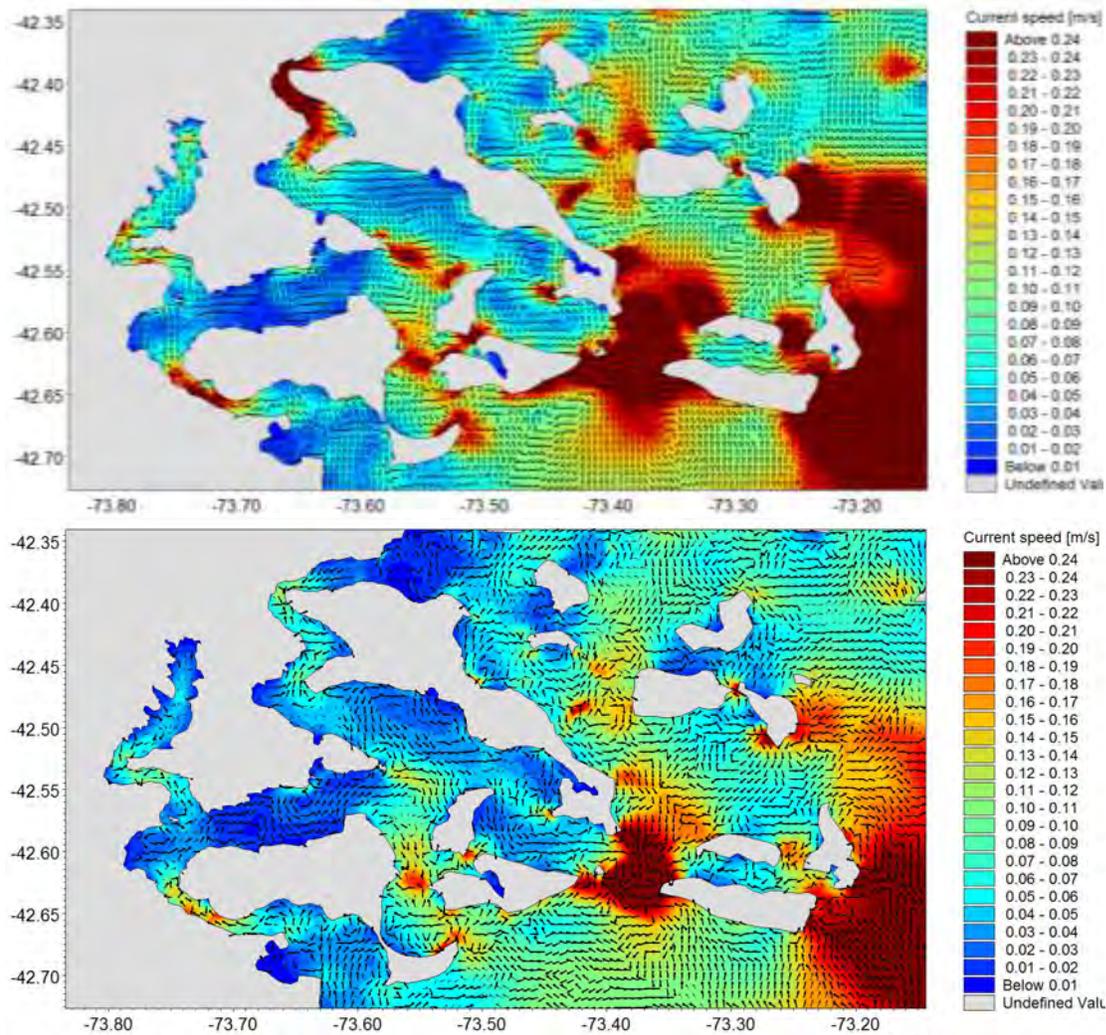


Figura 35: Vectores promedio de corrientes superficial (arriba) y de fondo (abajo) en el archipi6lago de Chil6, en colores se distingue la magnitud del vector.

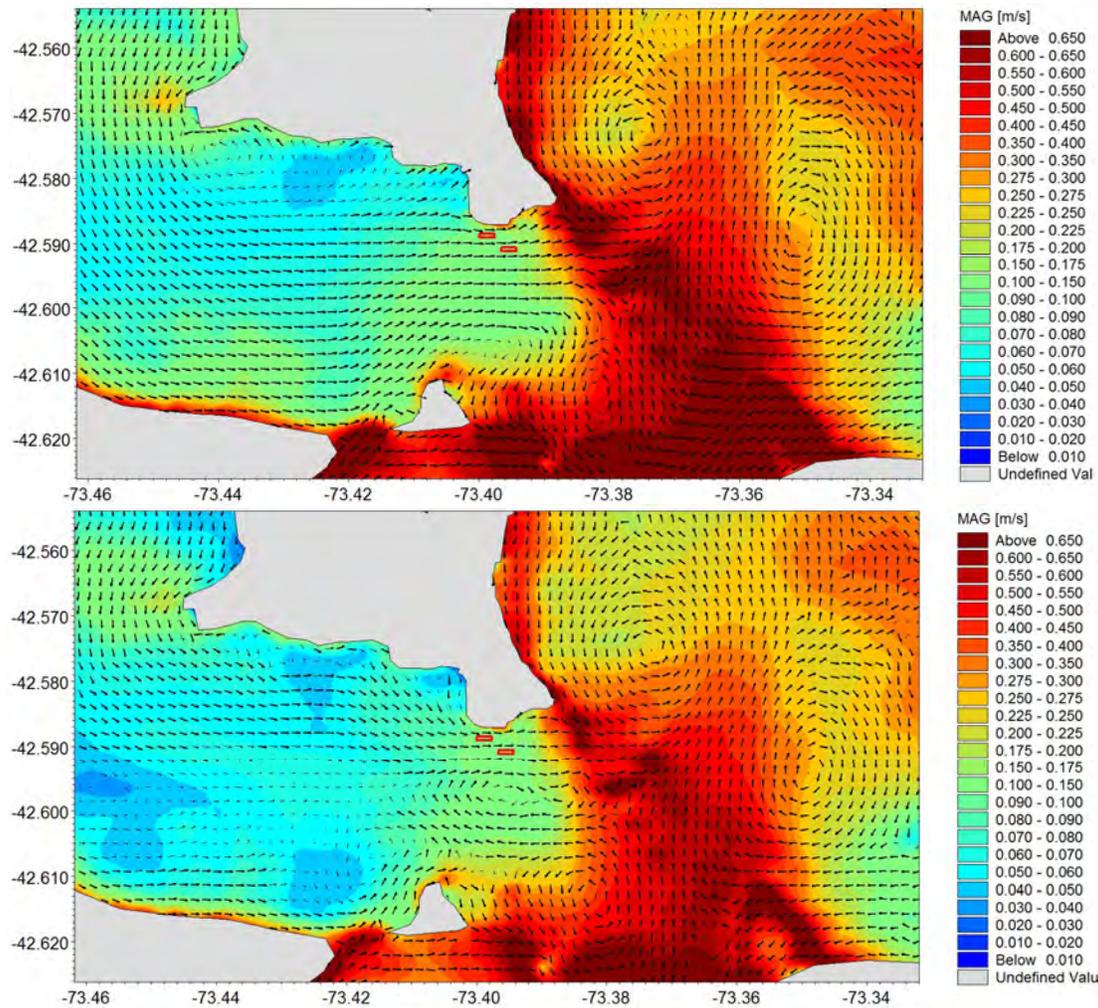


Figura 36: Vectores promedio de corrientes superficial (arriba) y de fondo (abajo) en pta. Chequian, en colores se distingue la magnitud del vector.

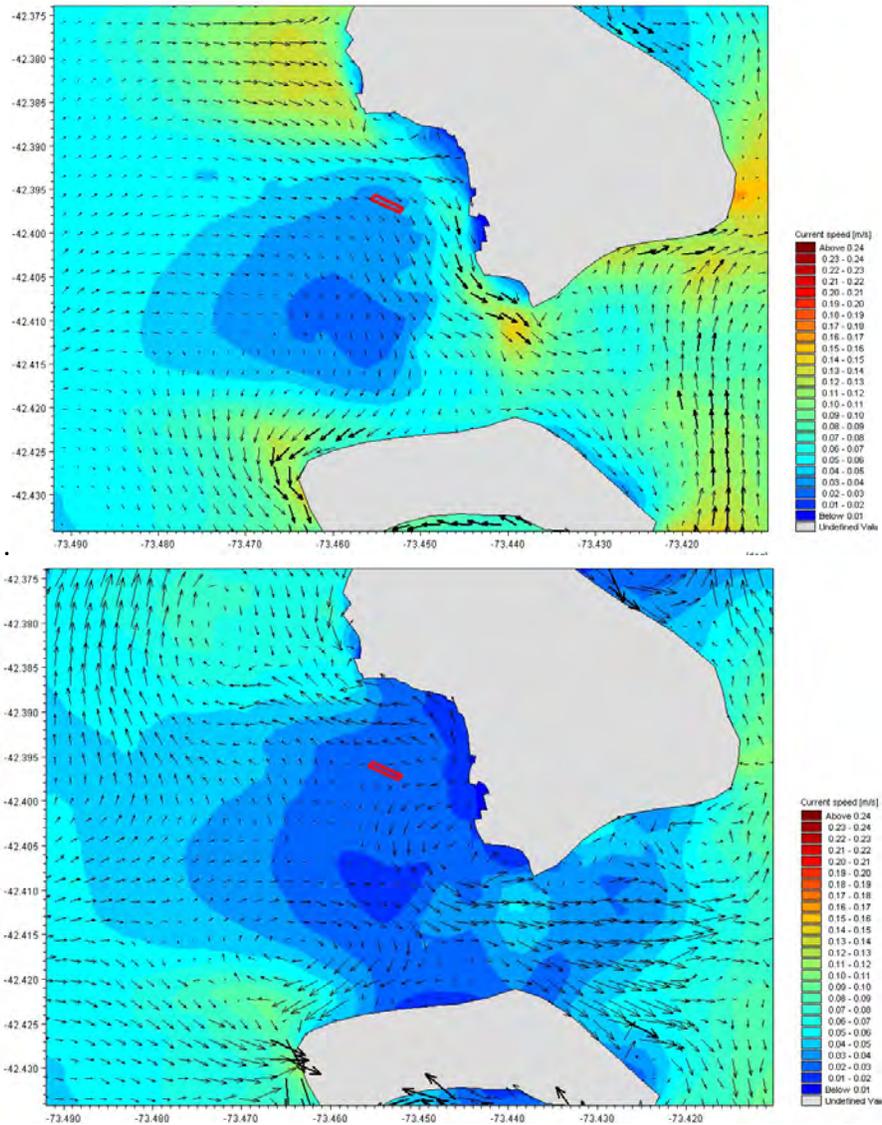


Figura 37: Vectores promedio de corrientes superficial (arriba) y de fondo (abajo) isla Linlin, en colores se distingue la magnitud del vector.

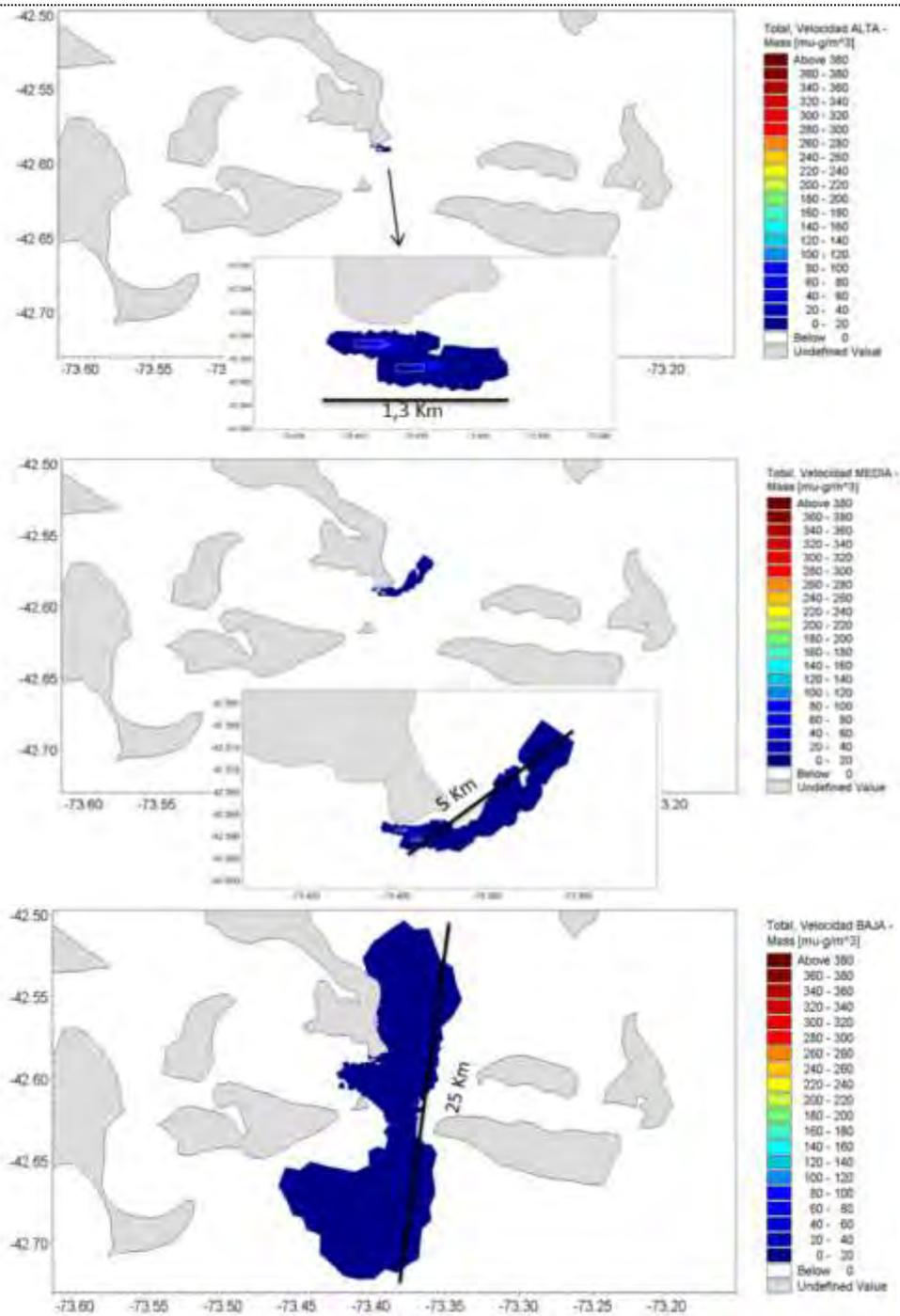


Figura 38: Area de cobertura de dispersi3n de fecas para una velocidad de sedimentaci3n alta (arriba), media (centro) y baja (abajo) en sector de pta. Chequian.

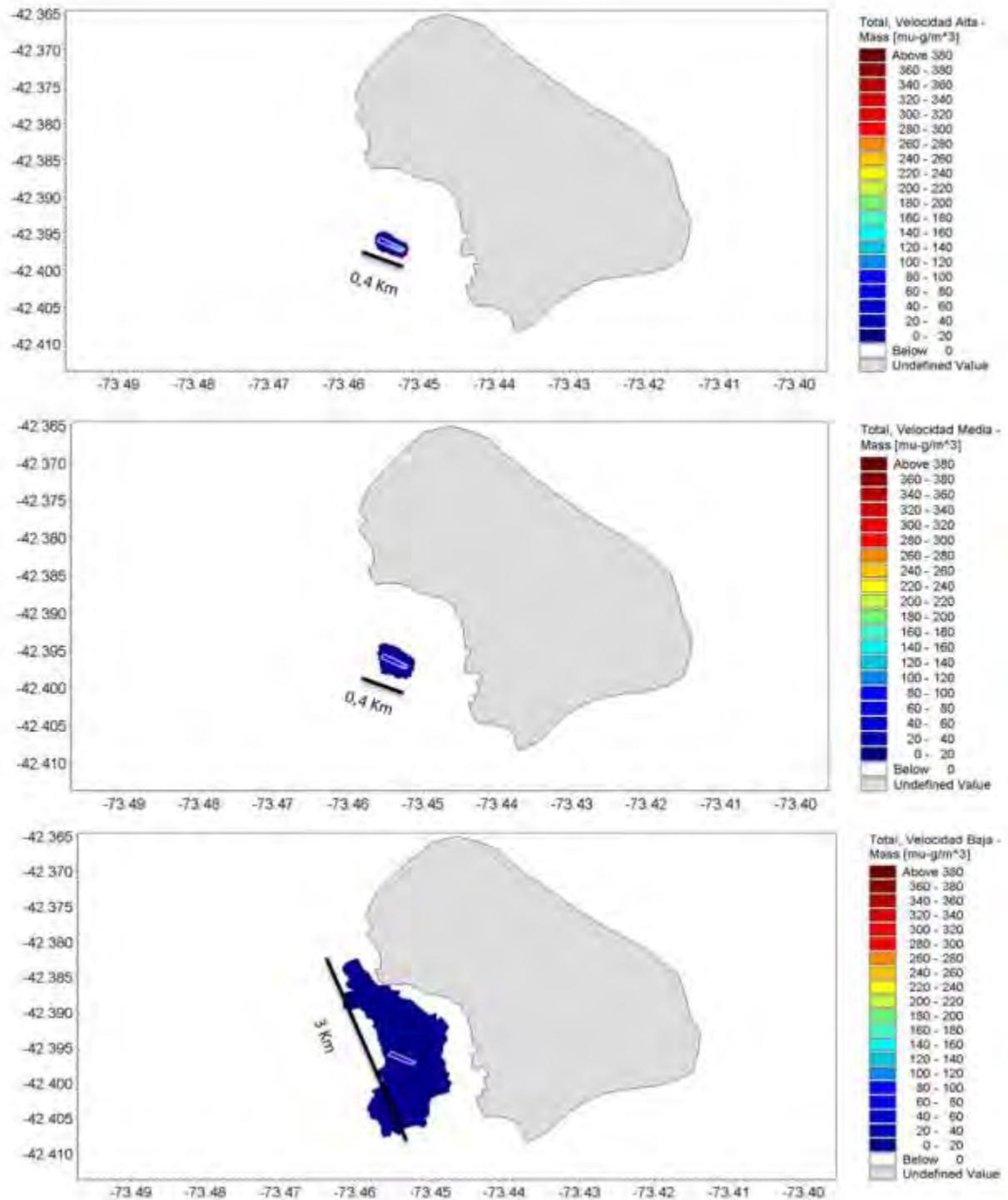


Figura 39: Area de cobertura de dispersi3n de fecas para una velocidad de sedimentaci3n alta (arriba), media (centro) y baja (abajo) en sector de isla Linlin.

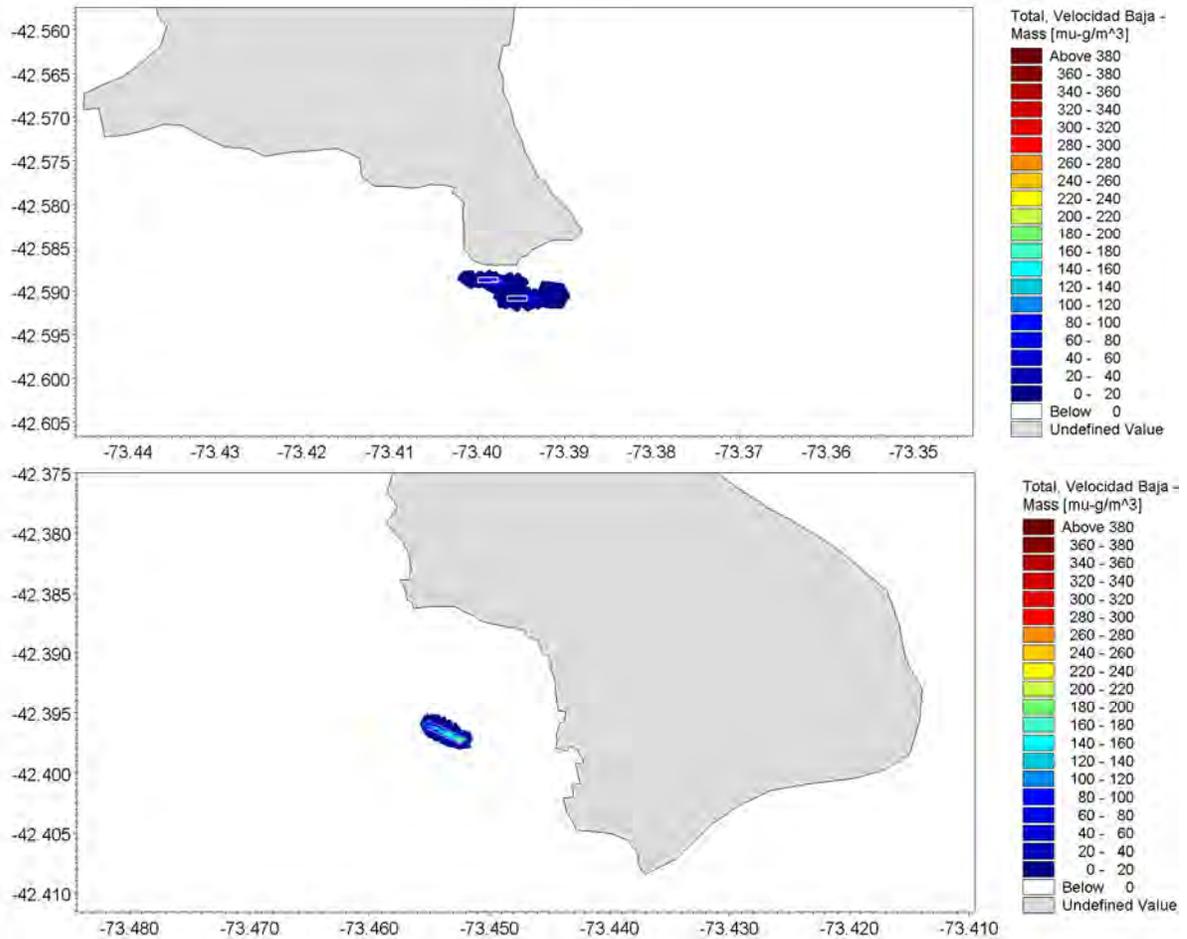


Figura 40: Area de cobertura de dispersi3n para una velocidad de sedimentaci3n de alimento en pta. Chequian (arriba), isla Linlin (abajo).

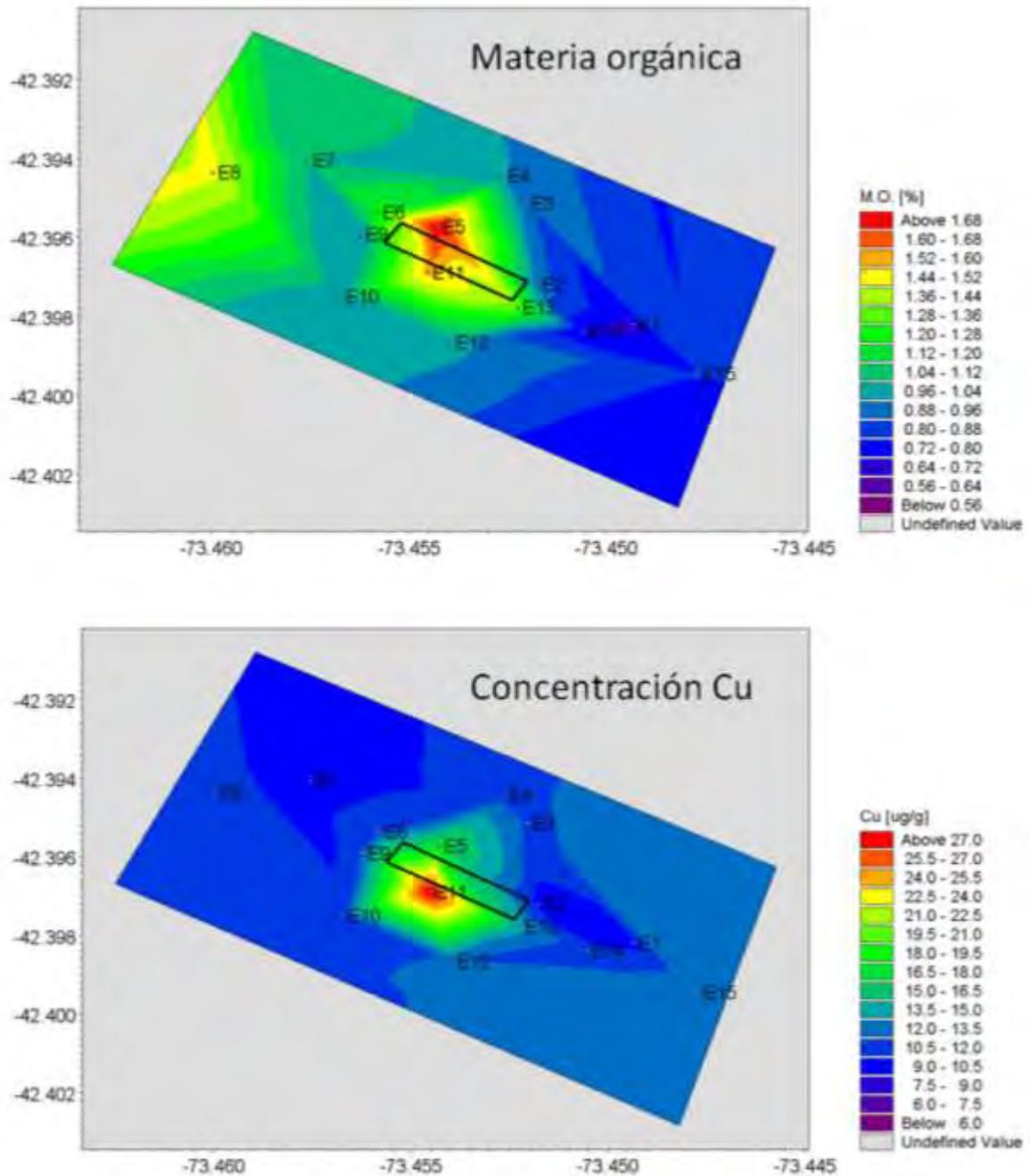


Figura 41: Distribuci3n espacial de Materia orgánica y cobre alrededor de un centro de cultivo en el sector de Linlin.

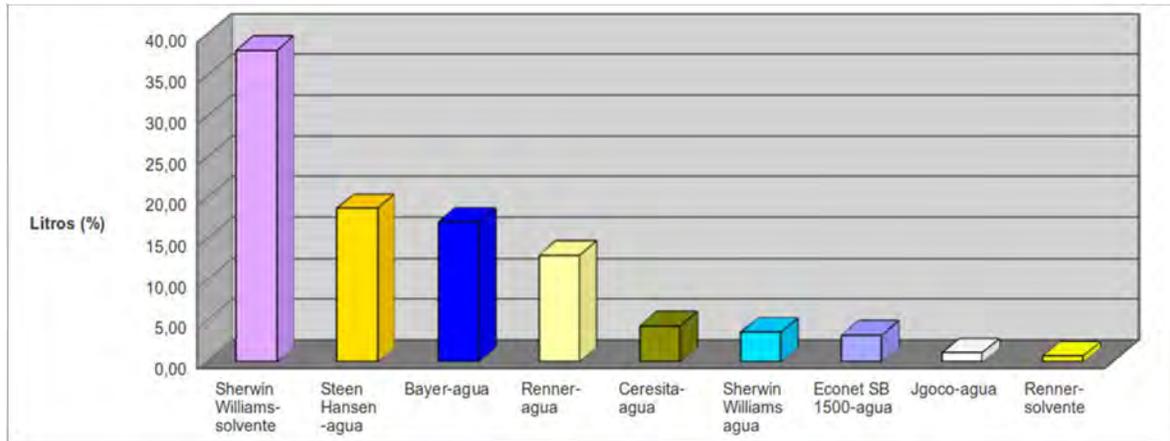


Figura 42. Pinturas antiincrustantes utilizadas en las empresas salmoneras por ciclo productivo durante el 2014 al 2015 (X-XI_XII Regi3n).

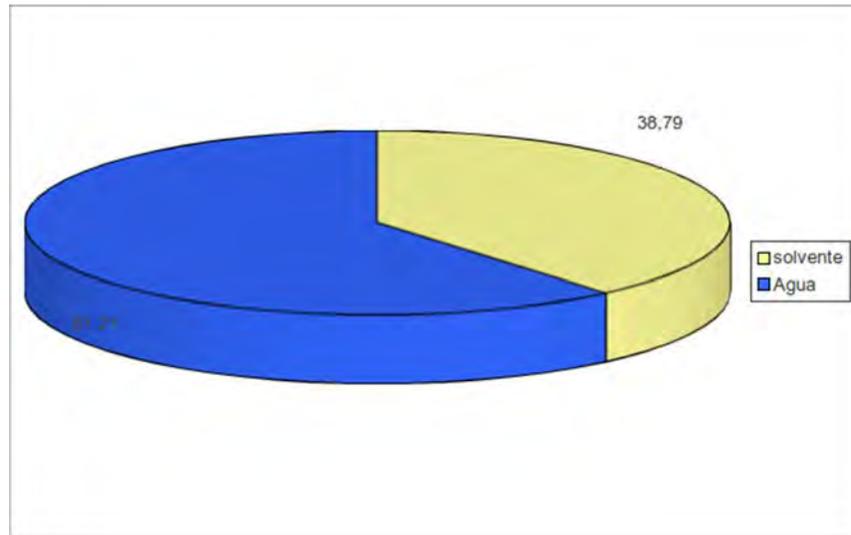


Figura 43. Pinturas antiincrustantes base agua y base solvente utilizadas en las empresas salmoneras por ciclo productivo (X-XI-XII Regi3n).

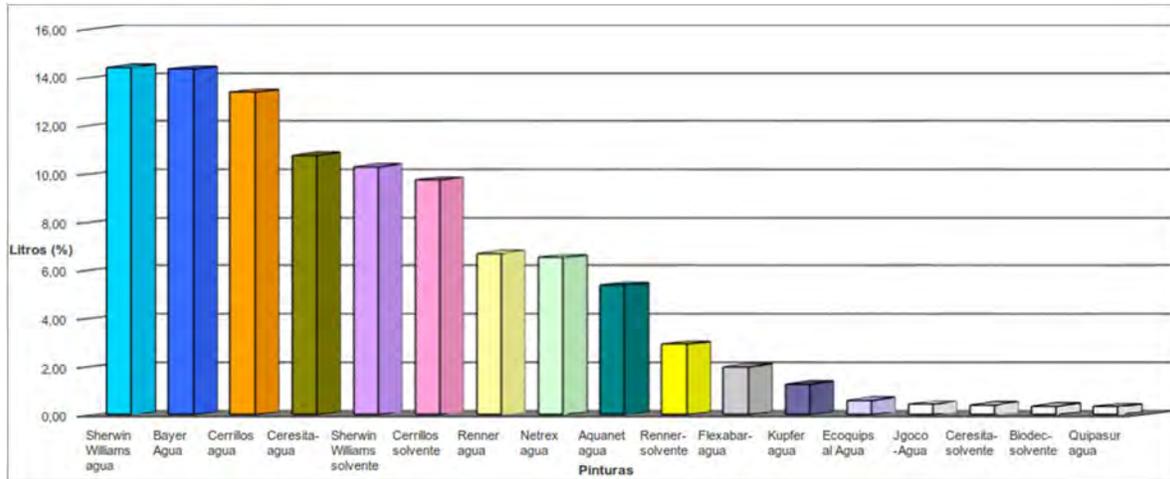


Figura 44. Pintura anti-incrustante (%) utilizada en talleres de redes, entre diciembre del 2014 a mayo del 2015, en la Región de Los Lagos.

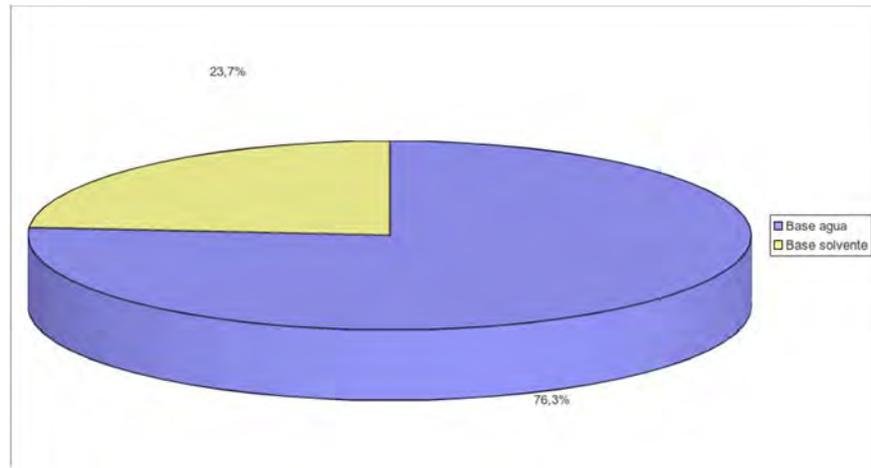


Figura 45. Porcentaje de pinturas en base agua y solvente utilizadas en talleres de redes.

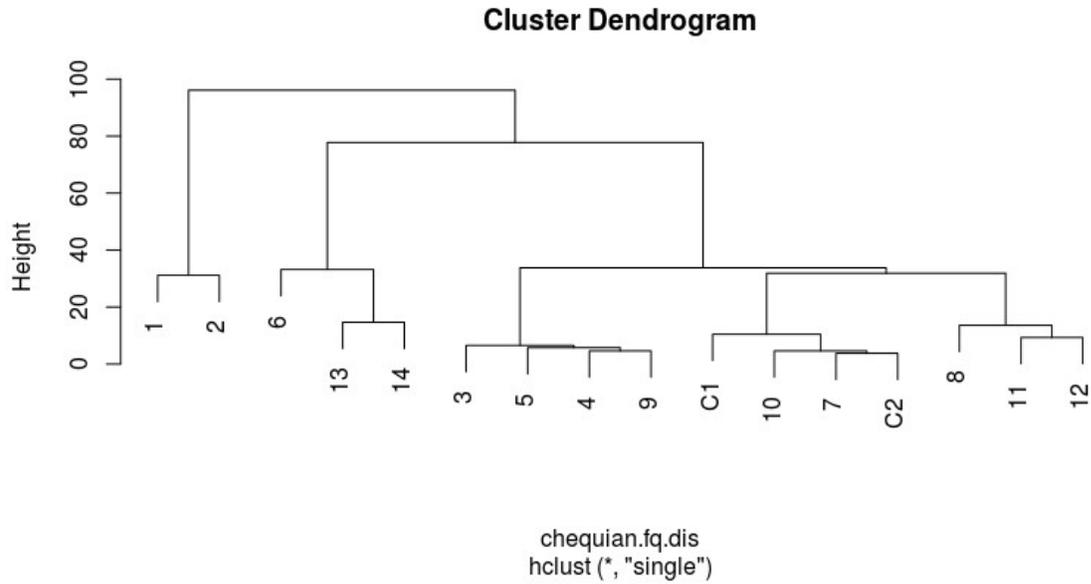


Figura 46. Análisis de Cluster de acuerdo a las estaciones de muestreo, en referencia a la temperatura, pH, redox, Cu y Zn de los sedimentos muestreados en Chequian.

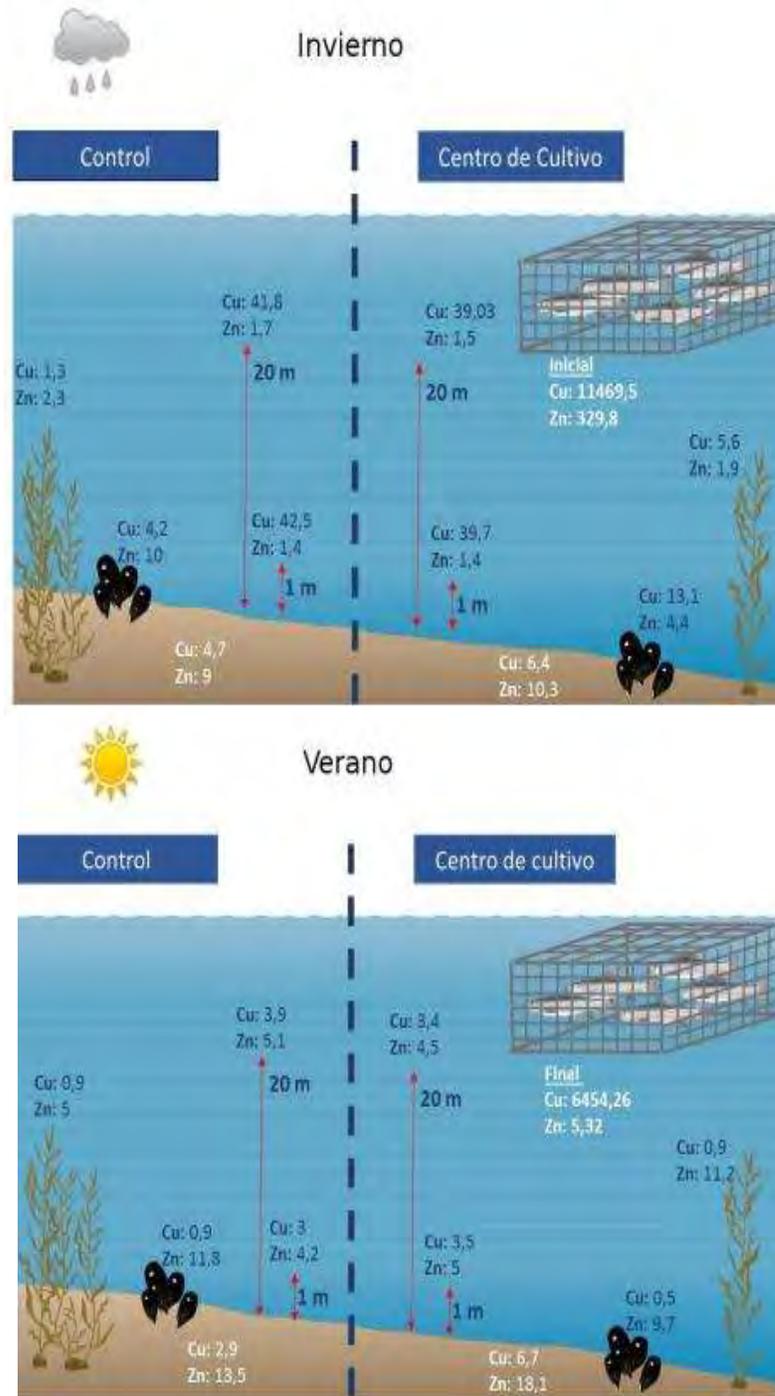


Figura 47. Esquema sinóptico de concentración de metales en las diversas matrices analizadas por campaña de muestreo. Las concentraciones de metales en sedimento, tejido y agua están en $\mu\text{g g}^{-1}$ y $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.



Tablas



Tabla 1. Coordenadas geográficas de lances exploratorios (47) del sedimento.

Punto	Latitud	Longitud
1	42° 35' 17,6" S	73° 23' 50,8" W
2	42° 35' 17,8" S	73° 23' 52,2" W
3	42° 35' 17,4" S	73° 23' 54,0" W
4	42° 35' 17,3" S	73° 23' 55,1" W
5	42° 35' 17,5" S	73° 23' 56,7" W
6	42° 35' 19,2" S	73° 24' 00,7" W
7	42° 35' 21,3" S	73° 23' 59,4" W
8	42° 35' 21,5" S	73° 23' 55,7" W
9	42° 35' 26,9" S	73° 23' 37,6" W
10	42° 35' 25,8" S	73° 23' 37,5" W
11	42° 35' 25,4" S	73° 23' 42,4" W
12	42° 35' 25,0" S	73° 23' 46,3" W
13	42° 35' 24,7" S	73° 23' 48,4" W
14	42° 35' 24,8" S	73° 23' 48,2" W
15	42° 35' 16,7" S	73° 23' 38,5" W
16	42° 35' 16,5" S	73° 24' 01,6" W
17	42° 35' 17,0" S	73° 23' 59,5" W
18	42° 35' 21,9" S	73° 23' 51,2" W
19	42° 35' 15,7" S	73° 23' 57,2" W
20	42° 35' 16,6" S	73° 23' 42,1" W
21	42° 35' 15,7" S	73° 23' 42,1" W
22	42° 35' 14,7" S	73° 23' 43,8" W
23	42° 35' 15,3" S	73° 23' 47,7" W
24	42° 35' 15,6" S	73° 23' 52,3" W
25	42° 35' 15,4" S	73° 23' 55,0" W
26	42° 35' 14,6" S	73° 23' 57,6" W
27	42° 35' 14,7" S	73° 24' 01,1" W
28	42° 35' 14,2" S	73° 24' 01,7" W
29	42° 35' 15,2" S	73° 24' 03,2" W
30	42° 35' 12,9" S	73° 24' 04,8" W
31	42° 35' 14,4" S	73° 24' 04,9" W
32	42° 35' 13,2" S	73° 24' 06,8" W
33	42° 35' 12,9" S	73° 24' 09,9" W
34	42° 35' 16,0" S	73° 24' 09,5" W
35	42° 35' 16,5" S	73° 24' 09,1" W
36	42° 35' 11,0" S	73° 24' 08,8" W
37	42° 35' 02,1" S	73° 24' 11,2" W
38	42° 34' 48,5" S	73° 24' 19,4" W
39	42° 35' 17,7" S	73° 23' 56,9" W
40	42° 35' 15,3" S	73° 23' 55,6" W
41	42° 35' 16,8" S	73° 24' 01,9" W
42	42° 35' 20,6" S	73° 23' 46,9" W
43	42° 35' 22,1" S	73° 23' 44,1" W
44	42° 35' 14,2" S	73° 23' 59,3" W
45	42° 35' 13,0" S	73° 24' 02,3" W
46	42° 35' 11,2" S	73° 24' 08,0" W
47	42° 35' 10,6" S	73° 24' 02,2" W



Tabla 2. Coordenadas geográficas de los puntos efectivos de muestreo (16) de sedimento en centro Chequian.

Punto	Latitud	Longitud
1	42° 35' 19,2" S	73° 24' 00,7" W
2	42° 35' 25,0" S	73° 23' 46,3" W
3	42° 35' 24,8" S	73° 23' 48,2" W
4	42° 35' 16,5" S	73° 24' 01,6" W
5	42° 35' 17,0" S	73° 23' 59,5" W
6	42° 35' 14,7" S	73° 23' 43,8" W
7	42° 35' 15,2" S	73° 24' 03,2" W
8	42° 35' 13,2" S	73° 24' 06,8" W
9	42° 35' 12,9" S	73° 24' 09,9" W
10	42° 35' 11,0" S	73° 24' 08,8" W
11	42° 35' 15,3" S	73° 23' 55,6" W
12	42° 35' 11,2" S	73° 24' 08,0" W
13	42° 35' 10,6" S	73° 24' 02,2" W
14	42° 35' 08,0" S	73° 24' 08,2" W
C1	42° 35' 02,1" S	73° 24' 11,2" W
C2	42° 34' 48,5" S	73° 24' 19,4" W



Tabla 3a. Calibre del pellet y su respectiva velocidad de sedimentación. Fuente:EWOS.

Alimento	N° Pellet por kg	N° Pellet por bolsa	Vel.hundim (mt/seg)
EWOS 15	110,000	2,750,000	
EWOS 50	70,000	1,750,000	
EWOS 100	26,000	650,000	0.088
EWOS 200	12,000	300,000	0.102
EWOS 500	4,300	107,500	0.128
EWOS 1000	1,700	42,500	0.135
EWOS 2000	1,100	27,500	0.147
EWOS 3000	600	15,000	0.156
EWOS 4000	600	15,000	0.156

Tabla 3b. Definición de rangos para distintas velocidad de sedimentación de las fecas de salmón

Rangos	Porcentaje de material orgánico %	Velocidad de sedimentación (cm/s)
Velocidad Alta	60 - 65	5 – 10
Velocidad Media	15 - 20	2.5 - 5
Velocidad Baja	15 -20	0.5 - 2.5

TABLA 3c: Tasa de acumulación máxima (con de material para cada sitio y para velocidades de sedimentación distinta.

Velocidad de sedimentación	Chequian (mu-g/m3)/d	Linlin (mu-g/m3)/d
Velocidad Alta (Fecas)	6,1	20,8
Velocidad Media (Fecas)	4,6	14,2
Velocidad Baja (Fecas)	1,5	5,2
Velocidad para Alimento	6,0	16,7



Tabla 3d: Detalles anclajes de ADCP para evaluación modelo hidrodinámico

ADCP	Ubicación	Fechas	Intervalo medición (s)	Espesor celda (cm)	Profundidad (m)
Curaco de Vélez	-73.620 -42.430	2012/09/28 2012/10/19	600	100	12
Linlin	-73.470 -42.380	2013/11/14 2013/11/24	600	200	48
Pta. Tutil	-73.720 -42.570	2012/09/05 2012/09/27	600	100	46
Isla Tranqui	-73.290 -42.930	2014/11/26 2014/12/28	600	100	58
San Pedro	-73.620 -43.290	2010/12/19 2010/12/31	600	100	44



Tabla 4. Número de ejemplares de *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ion Zn^{+2} [] disuelto a partir de ZnO.

Zn ²⁺ (mgL ⁻¹) (nominal)[disuelto]	N° de adheridos del N° total de expuestos				
	Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	Total (%)
Control [0,017]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100%)
(1,57)[2,820]	0 de 5	3 de 4	3 de 4	3 de 5	9 de 18 (50%)
(3,13)[3,101]	3 de 4	2 de 3	2 de 3	2 de 4	9 de 14 (64,3%)
(6,26)[2,84]	1 de 3	0 de 2	0 de 5	0 de 2	1 de 12(8,3%)
(12,53)[2,710]	0 de 4	0 de 3	0 de 2	0 de 3	0 de 12(0%)
(25,11)[2,999]	0 de 2	0 de 3	0 de 2	0 de 5	0 de 12(0%)
(50,22)[2,960]	0 de 1	0 de 1	0 de 2	0 de 1	0 de 5(0%)
(100,42)[2,830]	0 de 5	0 de 3	0 de 4	0 de 1	0 de 13(0%)
(200,85)[3,330]	0 de 1	0 de 2	0 de 1	0 de 1	0 de 5(0%)
(401,7)[2,820]	0 de 4	0 de 4	0 de 3	0 de 2	0 de 13(0%)



Tabla 5. Mortalidad e inhibición de la adherencia al sustrato de *M. chilensis* expuesto a ZnO en un rango amplio de concentraciones nominales.

Zn ²⁺ (mgL ⁻¹) (nominal)	N° de adheridos del N° total de expuestos				Muertos	
	Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	Total (%)	Total (%)
Control	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100%)	0 de 20 (0%)
1	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100%)	0 de 20 (0%)
10	3 de 5	2 de 5	1 de 5	2 de 5	8 de 20 (40%)	0 de 20 (0%)
100	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0%)	0 de 20 (0%)
1000	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0%)	20 de 20 (100%)



Tabla 6. Efecto del ZnO en la germinación de la espora de *M. Pyrifera*. Recuento de esporas con germinación normal (N) o anormal (A). Concentración nominal del ion Zn^{2+} () y cuantificada analíticamente disuelto en el agua de mar [].

Zn ²⁺ (mgL ⁻¹) (nominal)[disuelto]	N° de esporas germinadas normales y anormales								
	Replica 1		Replica 2		Replica 3		Replica 4		Total Anormales (%)
	N	A	N	A	N	A	N	A	
Control [0,017]	68	0	72	0	65	0	79	0	0
(0,386)[2,210]	85	0	89	0	77	0	78	0	0
(0,783)[1,430]	47	2	41	3	53	2	49	4	5
(1,57)[2,820]	89	11	81	8	78	10	84	7	9,8
(3,13)[3,101]	90	25	83	18	79	20	86	16	18,9*
(6,26)[2,840]	77	14	81	17	74	15	85	19	20,5*
(12,53)[2,710]	66	13	62	12	72	18	63	18	31,7*
(25,11)[2,990]	45	17	55	15	60	19	48	13	23,5*
(50,22)[2,960]	83	17	76	16	88	21	91	24	19,1*
(100,42)[2,830]	74	16	69	14	82	18	76	13	16,8*
(200,85)[3,330]	192	35	165	27	183	30	169	21	13,7*
(401,7)[2,820]	28	31	21	29	32	35	26	30	53,9*

* Diferencia estadística significativa con el control.



Tabla 7. Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a ZnO. El asterisco indica significancia estadística.

Longitud del tubo de germinación (μm) $\bar{X} \pm \text{DE}$. N=10					
Zn ²⁺ (mgL ⁻¹) (nominal)[disuelto]	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4	Promedio
Control [0,017]	14,7 \pm 1,4	13,05 \pm 1,1	13,65 \pm 1,8	13,6 \pm 2,0	13,7
(0,386)[2,210]	11,3 \pm 1,5	11 \pm 1,4	10,8 \pm 1,2	10,9 \pm 1,3	11*
(1,57)[2,820]	10,2 \pm 2,4	10,3 \pm 2,4	9,9 \pm 1,8	10,9 \pm 1,3	10,3*
(3,13)[3,101]	9,6 \pm 2,1	9,2 \pm 1,9	9,2 \pm 2,3	8,9 \pm 1,9	9,2*



Tabla 8. Número de ejemplares adultos de *Mytilus chilensis* muertos al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ion Cu^{+2} [] disuelto a partir de CuSO_4 y del ion Zn^{2+} a partir de concentraciones nominales () ZnSO_4 .

N° de muertos del N° total de expuestos					
Cu^{2+} (mgL ⁻¹) (nominal)[disuelto]	Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	Total (%)
Control [0,0036]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0%)
(0,038)[0,0112]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0%)
(0,070) [0,0188]	0 de 5	0 de 5	1 de 5	1 de 5	2 de 20 (10%)
(0,159)[0,0348]	0 de 5	1 de 5	1 de 5	1 de 5	3 de 20 (15%)
(0,318)[0,2842]	2 de 5	2 de 5	3 de 5	3 de 5	10 de 20(50%)
(0,636)[0,5107]	3 de 5	3 de 5	3 de 5	2 de 5	11 de 20(55%)
(1,272)[0,7602]	5 de 5	5 de 5	4 de 5	4 de 5	18 de 20(90%)
(2,545)[1,4237]	4 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	19 de 20(95%)
N° de muertos del N° total de expuestos					
Zn^{2+} (mgL ⁻¹) (nominal)	Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	Total (%)
Control [0,00]	1 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	1 de 20 (5%)
(0,53)	0 de 5	0 de 5	1 de 5	0 de 5	1 de 20 (5%)
(1,06)	0 de 5	0 de 5	1 de 5	1 de 5	2 de 20 (5%)
(2,13)	1 de 5	1 de 5	0 de 5	0 de 5	2 de 20 (10%)
(4,26)	3 de 5	3 de 5	3 de 5	1 de 5	10 de 20(50%)
(8,53)	3 de 5	3 de 5	3 de 5	2 de 5	11 de 20(55%)
(17,06)	4 de 5	3 de 5	3 de 5	2 de 5	12 de 20(60%)
(34,13)	2 de 5	2 de 5	4 de 5	3 de 5	11 de 20(55%)
(68,26)	4 de 5	3 de 5	2 de 5	3 de 5	12 de 20(60%)



Tabla 9. N3mero de ejemplares juveniles de *Mytilus chilensis* muertos al ser expuestos por 7 d3as a concentraciones nominales NOEC de Zn²⁺ y Cu²⁺ y a concentraciones NOEC individual del ion Cu²⁺ [] disuelto a partir de CuSO₄ y a concentraciones NOEC individual del ion Zn²⁺ a partir de concentraciones nominales () ZnSO₄.

Concentraci3n equivalente al NOEC de la sal completa (mgL ⁻¹)	NOEC i3n (mgL ⁻¹)	N3 de muertos del N3 total de expuestos				
		Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	Total (%)
Control agua de mar	---	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0%)
(5) ZnSO ₄ (0,3) CuSO ₄	(1,13) Zn ²⁺ (0,079) Cu ²⁺	5 de 5	5 de 5	4 de 5	3 de 5	17 de 20 (85%)
(5) ZnSO ₄	(1,13) Zn ²⁺	4 de 5	2 de 5	2 de 5	2 de 5	10 de 20 (50%)
(0,3) CuSO ₄	(0,079) Cu ²⁺	0 de 5	0 de 5	0 de 5	1 de 5	1 de 20(5%)



Tabla 10. Número de ejemplares adultos de *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras de biso al ser expuestos simultáneamente por 7 días a concentraciones nominales NOEC de Zn²⁺ y Cu²⁺ y a concentraciones NOEC individual del ion Cu²⁺ y del ion Zn²⁺.

Concentración equivalente al NOEC de la sal completa (mgL ⁻¹)	NOEC ión (mgL ⁻¹)	N° de ejemplares adultos adheridos del N° total de expuestos				Total (%)
		Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	
Control agua de mar	---	5 de 5	4 de 4	5 de 5	4 de 4	18 de 18 (0%)
(5) ZnSO ₄ (0,3) CuSO ₄	(1,13) Zn ²⁺ (0,079) Cu ²⁺	1 de 1 (100%)	0 de 2 (0%)	0 de 1 (0%)	0 de 2 (0%)	1 de 6 (16,7%)
(5) ZnSO ₄	(1,13) Zn ²⁺	2 de 4 (50%)	3 de 4 (75%)	2 de 2 (100%)	2 de 3 (66,7%)	9 de 13 (69%)
(0,3) CuSO ₄	(0,079) Cu ²⁺	4 de 5 (80%)	3 de 5 (60%)	5 de 5 (100%)	3 de 5 (60%)	15 de 20 (75%)



Tabla 11. Número de ejemplares juveniles y adultos de *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ion Zn^{+2} [] disuelto a partir de $ZnSO_4$.

N° de adheridos Juveniles del N° total de sobrevivientes expuestos					
Zn^{2+} (mgL ⁻¹) (nominal)[disuelto]	Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	Total (%)
Control [0,006]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100%)
(0,07)[0,016]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100%)
(0,14)[0,023]	4 de 5	3 de 5	4 de 4	3 de 5	14 de 20 (70%)
(0,28)[0,037]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	4 de 5	19 de 20(95%)
(0,56)[0,299]	4 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	19 de 20(95%)
(1,13)[0,599]	4 de 5	4 de 5	5 de 5	5 de 5	18 de 20(90%)
(2,27)[1,252]	0 de 4	1 de 5	0 de 4	1 de 5	2 de 18(25%)
(4,55)[4,879]	0 de 2	0 de 1	0 de 3	0 de 4	0 de 10(0%)
N° de adheridos Adultos del N° total de sobrevivientes expuestos					
Zn^{2+} (mgL ⁻¹) (nominal)	Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	Total (%)
Control	4 de 4	5 de 5	5 de 5	5 de 5	19 de 19 (100%)
(0,53)	5 de 5	5 de 5	4 de 4	5 de 5	19 de 19 (100%)
(1,06)	5 de 5	5 de 5	4 de 4	5 de 5	19 de 19 (100%)
(2,13)	4 de 4	1 de 4	2 de 5	3 de 5	10 de 18 (55,5%)
(4,26)	0 de 2	0 de 2	0 de 2	0 de 4	0 de 10 (0%)
(8,53)	0 de 2	0 de 2	0 de 2	0 de 3	0 de 9 (0%)
(17,06)	0 de 2	0 de 2	0 de 2	0 de 3	0 de 8 (0%)
(34,13)	0 de 3	0 de 3	0 de 1	0 de 2	0 de 9 (0%)
(68,26)	0 de 1	0 de 2	0 de 3	0 de 2	0 de 8 (0%)



Tabla 12. Número de ejemplares juveniles y adultos de *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ion Cu^{2+} [] disuelto a partir de CuSO_4 .

N° de adheridos Juveniles del N° total de sobrevivientes expuestos					
Cu^{2+} (mgL ⁻¹) (nominal)[disuelto]	Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	Total (%)
Control [0,0036]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100%)
(0,038)[0,0112]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100%)
(0,079)[0,0118]	5 de 5	5 de 5	4 de 4	4 de 4	18 de 18 (100%)
(0,159)[0,0348]	4 de 5	3 de 4	3 de 4	3 de 4	13 de 17 (76,5%)
(0,318)[0,2842]	0 de 3	0 de 3	0 de 2	0 de 2	0 de 10 (0%)
(0,636)[0,5107]	0 de 2	0 de 2	0 de 2	0 de 3	0 de 9 (0%)
(1,272)[0,7602]	0 de 0	0 de 0	0 de 1	0 de 1	0 de 2 (0%)
(2,545)[1,4237]	0 de 1	0 de 0	0 de 0	0 de 0	0 de 1 (0%)
N° de adheridos Adultos del N° total de sobrevivientes expuestos					
Cu^{2+} (mgL ⁻¹) (nominal)[disuelto]	Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	Total (%)
Control [0,0036]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100%)
(0,038)[0,0112]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100%)
(0,079)[0,0118]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100%)
(0,159)[0,0348]	4 de 4	1 de 2	2 de 5	4 de 5	11 de 16 (68,7%)
(0,318)[0,2842]	0 de 1	0 de 1	0 de 1	0 de 1	0 de 4 (0%)
(0,636)[0,5107]	0 de 1	0 de 0	0 de 2	0 de 0	0 de 3 (0%)
(1,272)[0,7602]	0 de 0	0 de 1	0 de 0	0 de 1	0 de 2 (0%)
(2,545)[1,4237]	0 de 1	0 de 0	0 de 0	0 de 0	0 de 1 (0%)



Tabla 13. Número de ejemplares juveniles de *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras de biso al ser expuestos simultáneamente por 7 días a concentraciones nominales NOEC de Zn²⁺ y Cu²⁺ y a concentraciones NOEC individual del ion Cu²⁺ y del ion Zn²⁺.

Concentración equivalente al NOEC de la sal completa (mgL ⁻¹)	NOEC ión (mgL ⁻¹)	N° de ejemplares juveniles adheridos del N° total de expuestos				Total (%)
		Replica A	Replica B	Replica C	Replica D	
Control agua de mar	---	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (0%)
(5) ZnSO ₄ (0,3) CuSO ₄	(1,13) Zn ²⁺ (0,079) Cu ²⁺	0 de 1 (0%)	0 de 1 (0%)	0 de 1 (0%)	---	0 de 3 (0%)
(5) ZnSO ₄	(1,13) Zn ²⁺	3 de 3 (100%)	2 de 2 (100%)	3 de 3 (100%)	1 de 2 (50%)	9 de 10 (90%)
(0,3) CuSO ₄	(0,079) Cu ²⁺	5 de 5 (100%)	4 de 4 (100%)	4 de 5 (80%)	5 de 5 (100%)	18 de 19 (94,7%)



Tabla 14. Efecto del Zn en la germinación de la espora de *M. Pylifera*. Recuento de esporas germinadas por sección de área del porta objeto. Concentración nominal del ion Zn^{2+} () y cuantificada analíticamente como Zn^{2+} disuelto en el agua de mar [] a partir de $ZnSO_4$.

Zn²⁺ (mgL⁻¹) (nominal)[disuelto]	N° de esporas germinadas				
	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4	Promedio
Control [0,006]	116	94	87	92	97,3
(0,07)[0,016]	65	92	72	102	82,8
(0,14)[0,023]	123	116	81	95	103,8
(0,28)[0,037]	106	82	79	93	90
(0,56)[0,299]	90	75	98	86	87,3
(1,13)[0,599]	82	90	103	110	96,3
(2,27)[1,252]	86	84	105	83	89,5
(4,55)[4,879]	95	77	99	80	87,8
(9,1)[7,719]	101	88	94	86	92,3
(18,2)[20,316]	102	78	84	82	86,5
(36,4)[40]	34	50	28	33	36,3*
(78,8)[80]	2	0	3	0	1,25*

* Diferencia estadística significativa con el control.



Tabla 15. Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a ZnSO₄. El asterisco indica significancia estadística.

	Longitud del tubo de germinación (µm) X± DE. N=10				
Zn ²⁺ (mgL ⁻¹) (nominal)[analítica]	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4	Promedio
Control [0,006]	14,5± 1,4	13,4±2,2	14,6±2,9	13,2±2,8	13,9
(0,56)[0,299]	14,3±2,7	13,8±2,3	14,6±1,4	14,6±2,2	14,3
(1,13)[0,599]	13,0±2,9	13,6±1,9	13,4±2,2	13,8±2,2	13,4
(2,27)[1,252]	10,7±2,9	11,8±1,6	11,6±1,6	11,3±1,9	11,3*
(4,55)[4,879]	9,1±1,7	9,5±2,2	9,8±1,7	9,6±1,6	9,5*
(9,1)[7,719]	7,1±1,3	8,0±1,7	7,2±1,4	7,6±1,7	7,5*
(18,2)[20,316]	7,3±2,0	6,9±1,3	7,2±1,8	6,7±1,2	7,0*



Tabla 16. Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a CuSO_4 . El asterisco indica significancia estadística.

Longitud del tubo de germinación (μm) $\bar{X} \pm \text{DE}$. N=10					
Cu^{2+} (mgL^{-1}) (nominal)[analítica]	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4	Promedio
Control [0,0036]	11,3 \pm 1,4	11,0 \pm 2,2	11,1 \pm 1,5	11,2 \pm 1,6	11,15
(0,038)[0,0112]	11,3 \pm 1,9	10,8 \pm 1,8	13,3 \pm 1,4	11,0 \pm 1,4	11,1
(0,079)[0,0118]	10,3 \pm 1,4	10,6 \pm 1,8	10,5 \pm 1,4	10,8 \pm 1,0	10,55*
(0,159)[0,0348]	10,0 \pm 1,3	10,3 \pm 1,2	10,4 \pm 1,3	10,6 \pm 1,2	10,33*
(0,318)[0,2842]	10,1 \pm 1,3	10,1 \pm 1,5	10,0 \pm 1,4	10,4 \pm 1,3	10,15*
(0,636)[0,5107]	9,3 \pm 1,3	9,8 \pm 1,3	9,4 \pm 1,3	9,4 \pm 0,9	9,48*
(1,272)[0,7602]	8,2 \pm 1,2	8,1 \pm 1,2	8,4 \pm 1,2	8,2 \pm 1,4	8,23*
(2,545)[1,4237]	8,0 \pm 1,6	7,9 \pm 1,2	7,8 \pm 1,3	8,1 \pm 1,4	7,95*
(5,09)	8,1 \pm 1,9	7,7 \pm 1,5	7,8 \pm 1,4	7,8 \pm 1,5	7,86*
(10,18)	8,1 \pm 1,6	7,4 \pm 1,5	8,1 \pm 1,5	8,2 \pm 1,6	7,95*



Tabla 17. Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a $\text{CuSO}_4 + \text{ZnSO}_4$. El asterisco indica significancia estadística.

	Longitud del tubo de germinación (μm) $\bar{X} \pm \text{DE}$. N=10				
Zn ²⁺ + Cu ²⁺ (mgL ⁻¹) (nominal)[analítica]	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Replica 4	Promedio
Control [0,006+0,0036]	14,2 \pm 1,7	13,8 \pm 1,6	14,3 \pm 1,7	13,8 \pm 1,6	14,0
(0,56 + 0,019) [0,299 + 0,009]	11,7 \pm 1,9	11,6 \pm 1,6	12,0 \pm 1,5	11,6 \pm 1,6	11,7*
(1,13 + 0,038) [0,599 + 0,011]	10,8 \pm 1,2	10,5 \pm 0,9	10,7 \pm 0,9	10,8 \pm 1,2	10,7*
(2,27 + 0,079) [1,252 + 0,0118]	8,5 \pm 1,5	8,9 \pm 1,0	8,9 \pm 0,9	9,0 \pm 0,9	8,8*
(4,55 + 0,159) [4,879 + 0,0348]	7,8 \pm 1,0	7,4 \pm 1,1	8,0 \pm 0,8	7,5 \pm 1,2	7,7*
(9,1 + 0,318) [7,7190,2842]	6,6 \pm 1,0	6,6 \pm 0,9	6,7 \pm 1,1	6,5 \pm 1,1	6,6*
(18,2 + 0,636) [20,316 + 0,5107]	5,4 \pm 2,0	5,7 \pm 1,3	5,5 \pm 1,8	5,4 \pm 1,2	5,5*
(36,4 + 1,272) [40 + 0,7602]	4,9 \pm 0,4	4,9 \pm 0,4	4,8 \pm 0,4	4,9 \pm 0,4	4,9*
(78,2 + 2,545) [80 + 1,4237]	----	----	----	----	----
(145,6 + 5,09)	----	----	----	----	----



Tabla 18. Parámetros físico-químicos y biológicos medidos en el sedimento del centro Chequian .

Campaña	Estación	Latitud	Longitud	T (°C)	T (D.E.)	pH	pH (D.E.)	Redox (mV)	Redox (D.E.)	MOT (%)	MOT (D.E.)
invierno	1	42°35'19,2"S	73°24'00,7"W	10,50	0,00	6,81	0,02	-100,50	65,76	0,68	0,13
invierno	2	42°35'25,0"S	73°23'46,3"W	10,00	0,10	7,20	0,04	-129,30	90,10	0,74	0,12
invierno	3	42°35'24,8"S	73°23'48,2"W	9,50	0,00	7,15	0,00	-27,50	0,00	0,55	NA
invierno	4	42°35'16,5"S	73°24'01,6"W	10,07	0,06	7,15	0,06	-1,77	2,28	0,70	0,14
invierno	5	42°35'17,0"S	73°23'59,5"W	10,10	0,26	7,12	0,02	19,63	40,89	0,63	0,02
invierno	6	42°35'14,7"S	73°23'43,8"W	7,61	0,71	7,53	0,05	148,33	47,61	6,23	4,11
invierno	7	42°35'15,2"S	73°24'03,2"W	8,37	0,15	7,29	0,17	118,33	45,83	3,41	2,55
invierno	8	42°35'13,2"S	73°24'06,8"W	9,97	0,84	7,59	0,16	206,33	6,03	3,16	1,41
invierno	9	42°35'12,9"S	73°24'09,9"W	10,60	1,73	7,54	0,24	42,53	106,11	0,42	0,08
invierno	10	42°35'11,0"S	73°24'08,8"W	10,23	0,55	7,66	0,21	102,33	99,40	1,71	1,18
invierno	11	42°35'15,3"S	73°23'55,6"W	7,80	0,00	9,67	0,00	148,00	0,00	1,59	NA
invierno	12	42°35'11,2"S	73°24'08,0"W	9,40	0,00	7,65	0,00	135,00	0,00	0,75	NA
invierno	13	42°35'10,6"S	73°24'02,2"W	8,10	0,14	7,77	0,06	178,00	38,18	1,53	0,01
invierno	14	42°35'08,0"S	73°24'08,2"W	8,00	0,17	7,41	0,20	226,33	4,73	1,36	0,29
invierno	C1	42°35'02,1"S	73°24'11,2"W	10,43	0,12	7,36	0,20	79,33	57,24	0,81	0,30
invierno	C2	42°34'48,5"S	73°24'19,4"W	9,57	1,10	7,08	0,07	99,00	36,43	0,49	0,05
verano	1	42°35'17,7"	73°23'59,5"	13,57	0,06	7,07	0,24	75,00	105,53	0,86	0,03
verano	2	42°35'24,8"	73°23'46,1"	13,33	0,15	7,06	0,41	78,67	81,09	1,12	0,32
verano	3	42°35'25,2"	73°23'47,6"	12,80	0,30	7,25	0,14	158,33	255,21	1,42	0,38
verano	4	42°35'16,6"	73°24'1,6"	13,33	0,21	7,45	0,38	214,67	52,05	0,83	0,06
verano	5	42°35'16,9"	73°23'59,5"	13,60	0,10	7,38	0,38	182,00	7,55	0,87	0,12
verano	6	42°35'14,5"	73°23'43,9"	13,47	0,06	7,67	0,04	428,00	15,39	3,94	1,50
verano	7	42°35'15,1"	73°24'3,5"	13,87	0,06	7,23	0,33	181,33	59,03	1,79	1,25
verano	8	42°35'13,2"	73°24'6,8"	13,60	0,10	7,68	0,11	177,33	19,30	1,50	0,19
verano	9	42°35'12,9"	73°24'9,9"	13,67	0,12	7,37	0,05	175,67	22,28	0,78	0,07
verano	10	42°35'11"	73°24'8,7"	13,47	0,06	7,46	0,29	188,67	12,90	0,63	0,03
verano	11	42°35'13,2"	73°23'54,3"	14,20	0,00	7,62	0,00	262,00	0,00	0,41	NA
verano	12	42°35'11,3"	73°24'7,9"	13,77	0,12	7,72	0,05	236,00	87,50	0,73	0,17
verano	13	42°35'10,7"	73°24'2,2"	17,25	0,07	7,84	0,07	463,50	2,12	0,44	0,04
verano	14	42°35'8,1"	73°24'8,4"	14,23	0,06	7,74	0,15	426,33	15,53	0,64	0,01
verano	C1	42°35'2,2"	73°24'11,3"	13,53	0,12	7,68	0,05	241,33	64,53	0,61	0,08
verano	C2	42°34'48,4"	73°24'19,6"	14,47	0,15	7,54	0,02	202,00	19,70	0,73	0,12



Tabla 19. Análisis granulométrico del sedimento en estaciones del centro Chequian, de las 2 campañas realizadas. Se presentan los valores promedio en porcentaje para cada fracción. Los valores en negrita de la campaña de invierno, agrupan valores sobre 1000 μm .

		Grava	Grava + Arena muy gruesa	Arena gruesa	Arena mediana	Arena fina	Arena muy fina	Limo
campaña	estaciones	> 2000 μm	2000-1000 μm	1000-500 μm	500-250 μm	250-125 μm	125-63 μm	<63 μm
verano	1,0	2,2	8,6	31,1	48,9	6,4	1,8	1,0
verano	2,0	11,8	12,1	35,9	17,6	15,4	6,2	1,0
verano	3,0	14,1	10,3	15,1	19,3	28,1	10,5	2,7
verano	4,0	15,4	11,6	29,3	35,2	6,2	1,9	0,5
verano	5,0	6,1	17,1	32,4	37,3	5,5	1,4	0,2
verano	6,0	58,3	21,7	5,9	7,0	4,8	2,2	0,2
verano	7,0	2,0	10,7	38,1	42,3	4,8	1,5	0,5
verano	8,0	3,8	13,0	41,7	34,3	5,1	1,6	0,4
verano	9,0	2,5	13,8	41,2	33,0	6,2	2,8	0,6
verano	10,0	1,5	11,9	40,7	39,3	5,0	1,5	0,1
verano	11,0	69,0	12,8	14,3	2,3	1,1	0,4	0,0
verano	12,0	2,0	10,7	33,5	46,5	6,1	1,2	0,0
verano	13,0	74,8	21,4	2,0	0,8	0,8	0,1	0,0
verano	14,0	6,6	14,2	36,9	37,5	4,3	0,4	0,0
verano	C1	0,0	3,6	46,5	44,0	4,9	1,0	0,0
verano	C2	0,0	0,6	3,0	14,7	52,6	29,0	0,0
invierno	1,0		37,8	24,7	28,2	6,6	2,5	0,1
invierno	2,0		14,8	18,9	26,0	28,8	11,2	0,3
invierno	3,0		59,9	9,5	13,6	12,5	4,4	0,1
invierno	4,0		35,1	26,6	29,2	7,6	1,4	0,3
invierno	5,0		21,0	36,3	36,6	4,9	0,9	0,3
invierno	6,0		77,8	7,2	7,4	5,1	1,8	0,8
invierno	7,0		21,6	32,6	37,5	6,1	1,6	0,6
invierno	8,0		28,2	33,3	32,0	5,0	1,4	0,1
invierno	9,0		24,0	32,7	35,5	5,4	2,0	0,4
invierno	10,0		23,9	34,0	37,4	3,9	0,6	0,1
invierno	11,0		70,7	13,3	13,0	2,2	0,6	0,1
invierno	12,0		13,7	34,1	46,8	4,6	0,6	0,2
invierno	13,0		63,8	20,9	12,0	2,9	0,2	0,1
invierno	14,0		36,8	26,2	31,3	4,9	0,7	0,1
invierno	C1		2,8	46,1	43,8	6,0	1,0	0,2
invierno	C2		0,6	3,4	22,4	51,6	20,4	1,6



Tabla 20. Concentración de Cu y Zn, promedios y desviación estándar, en sedimentos muestreados en el centro Chequian.

Cu y Zn en sedimentos de Chequian 1 muestreo, con medias y desviación estándar								
	estacion	replica	Cu ug/g	Zn ug/g	Cu (X)	Cu (D.E.)	Zn (X)	Zn (D.E)
invierno	1	1	6,34	8,82	7,03	0,97	9,29	0,66
		2	7,71	9,76				
		x						
	2	1	13,36	12,44	9,17	3,87	11,82	0,83
		2	8,41	12,15				
		3	5,73	10,88				
	3	1	9,74	9,72	9,74	0,00	9,72	0,00
		x						
		x						
	4	1	7,31	14,75	7,34	1,54	9,63	4,45
		2	8,89	7,49				
		3	5,81	6,65				
	5	1	4,47	7,99	5,54	1,22	7,70	3,07
		2	5,27	10,61				
		3	6,87	4,49				
	6	1	7,27	13,67	6,28	0,87	12,62	1,08
2		5,67	11,51					
3		5,90	12,69					
7	1	4,47	4,67	4,70	0,20	10,71	7,53	
	2	4,82	8,33					
	3	4,82	19,15					
8	1	4,84	5,19	5,01	0,20	9,86	5,57	
	2	5,23	16,02					
	3	4,94	8,36					
9	1	5,83	8,56	6,24	0,44	11,29	2,46	
	2	6,71	13,31					
	3	6,18	12,01					
10	1	5,39	11,17	6,06	0,76	9,42	3,31	
	2	5,89	11,48					
	3	6,88	5,60					
11	1	7,91	9,91	7,91	0,00	9,91	0,00	
	x							
	x							
12	1	5,99	11,26	5,99	0,00	11,26	0,00	
	x							
	x							
13	1	5,20	8,74	5,94	1,04	11,61	4,07	
	2	6,67	14,49					
	x							
14	1	6,73	7,13	5,90	0,81	9,58	2,25	
	2	5,11	10,06					
	3	5,85	11,56					
15	1	4,56	6,37	4,45	0,33	9,31	3,95	
	2	4,08	13,80					
	3	4,72	7,77					
16	1	3,77	9,74	4,97	2,49	8,60	2,43	
	2	7,84	10,25					
	3	3,32	5,81					
	LD		0,14	0,60				



Tabla 20 continuación

verano	1	1	4,82	11,82	4,59	0,37	10,88	4,25
		2	4,78	14,58				
		3	4,16	6,24				
	2	1	7,62	27,76	9,77	4,20	22,42	4,77
		2	14,60	20,93				
		3	7,08	18,58				
	3	1	6,80	17,71	7,48	1,46	12,61	4,42
		2	9,15	10,25				
		3	6,48	9,88				
	4	1	3,46	18,58	3,60	0,13	19,98	2,22
		2	3,72	18,82				
		3	3,62	22,53				
	5	1	3,63	21,02	3,84	0,34	20,51	2,87
		2	4,23	23,09				
		3	3,65	17,43				
	6	1	3,15	27,30	3,34	0,17	20,80	5,97
2		3,39	19,53					
3		3,49	15,57					
7	1	3,60	24,88	7,07	3,08	21,16	3,58	
	2	8,10	17,74					
	3	9,49	20,84					
8	1	9,98	21,29	7,64	3,19	17,61	8,90	
	2	4,00	7,46					
	3	8,92	24,07					
9	1	8,62	24,07	9,19	0,51	24,24	2,83	
	2	9,36	27,16					
	3	9,59	21,50					
10	1	7,87	22,43	6,51	2,90	19,86	13,43	
	2	3,17	5,34					
	3	8,48	31,82					
11	1	10,82	19,21	10,82	0,00	19,21	0,00	
	x							
	x							
12	1	4,07	8,76	3,39	0,60	9,48	0,67	
	2	2,93	9,62					
	3	3,16	10,07					
13	1	4,29	13,45	8,83	6,43	32,38	26,77	
	2	13,37	51,31					
	x							
14	1	2,85	8,65	10,64	12,77	7,58	1,07	
	2	25,38	7,57					
	3	3,70	6,52					
15	1	3,18	10,16	3,19	0,01	9,64	0,79	
	2	3,19	10,02					
	3	3,19	8,74					
16	1	1,74	6,93	2,63	1,67	17,42	9,09	
	2	1,59	22,73					
	3	4,56	22,61					
LD		0,15	2,11	la x es muestra fallida				



Tabla 21. Concentración de Cu y Zn en muestras de agua asociadas al muestreo del centro Chequian.

Concentración de Cu y Zn en 1 muestreo de agua en Chequian				
Epoca	Estacion	Identificación original	Cu, ug/L	Zn, ug/L
Invierno	1	Aguas 1m sobre fondo	27,62	1,67
		Aguas 20 m profundidad pecera	31,00	2,03
	2	Aguas 1m sobre fondo	34,84	0,72
		Aguas 20 m profundidad pecera	36,76	0,71
	3	Aguas 1m sobre fondo	49,71	0,86
		Aguas 20 m profundidad pecera	44,53	0,53
	4	Aguas 1m sobre fondo	43,91	0,55
		Aguas 20 m profundidad pecera	41,88	0,39
	5	Aguas 1m sobre fondo	42,36	0,49
		Aguas 20 m profundidad pecera	42,17	0,60
	6	Aguas 1m sobre fondo	39,15	1,83
		Aguas 20 m profundidad pecera	30,40	2,25
	7	Aguas 1m sobre fondo	37,19	2,47
		Aguas 20 m profundidad pecera	40,27	2,66
	8	Aguas 1m sobre fondo	41,85	0,88
		Aguas 20 m profundidad pecera	44,33	0,86
	9	Aguas 1m sobre fondo	43,42	0,93
		Aguas 20 m profundidad pecera	43,28	1,17
	10	Aguas 1m sobre fondo	42,95	1,77
		Aguas 20 m profundidad pecera	36,10	1,82
	11	Aguas 1m sobre fondo	32,80	2,12
		Aguas 20 m profundidad pecera	38,09	2,23
	12	Aguas 1m sobre fondo	39,76	1,46
		Aguas 20 m profundidad pecera	39,68	1,38
	13	Aguas 1m sobre fondo	40,97	2,13
		Aguas 20 m profundidad pecera	37,52	2,19
	14	Aguas 1m sobre fondo	39,11	1,57
		Aguas 20 m profundidad pecera	40,35	1,48
	15	Aguas 1m sobre fondo	42,03	1,45
		Aguas 20 m profundidad pecera	42,37	1,56
	16	Aguas 1m sobre fondo	42,99	1,30
		Aguas 20 m profundidad pecera	41,30	1,85
	LD Invierno		0,14	0,60
Verano	1	Aguas 1m sobre fondo	3,48	5,84
		Aguas 20 m profundidad pecera	4,06	6,12
	2	Aguas 1m sobre fondo	4,08	6,32
		Aguas 20 m profundidad pecera	-4,59	6,04
	3	Aguas 1m sobre fondo	4,11	5,21
		Aguas 20 m profundidad pecera	2,80	4,36
	4	Aguas 1m sobre fondo	3,22	4,51
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,57	5,16
	5	Aguas 1m sobre fondo	3,73	5,02
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,23	3,66
	6	Aguas 1m sobre fondo	4,12	7,27
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,47	4,93
	7	Aguas 1m sobre fondo	4,02	4,77
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,34	4,21
	8	Aguas 1m sobre fondo	2,89	3,82
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,05	4,11
	9	Aguas 1m sobre fondo	2,46	3,06
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,50	4,26
	10	Aguas 1m sobre fondo	3,68	6,19
		Aguas 20 m profundidad pecera	2,44	3,25
	11	Aguas 1m sobre fondo	3,28	4,12
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,01	3,80
	12	Aguas 1m sobre fondo	3,67	4,18
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,43	3,64
	13	Aguas 1m sobre fondo	3,32	5,66
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,66	5,66
	14	Aguas 1m sobre fondo	3,22	4,13
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,34	3,56
	15	Aguas 1m sobre fondo	3,46	4,54
		Aguas 20 m profundidad pecera	4,46	4,69
	16	Aguas 1m sobre fondo	2,55	3,91
		Aguas 20 m profundidad pecera	3,40	5,57
	LD verano		1,34	0,29



Tabla 22. Concentraciones de Cu y Zn en tejidos blandos de *Mytilus chilensis* y *Macrocystis pyrifera* asociados al centro Chequian.

Epoca	Muestra	Cu (ug/g)	Zn (ug/g)	Cu (X)	Cu (D.E.)	Zn (X)	Zn (D.E.)
invierno	Chorito dentro	2,427	8,808	13,067	30,752	4,435	3,311
		1,596	2,333				
		1,885	2,238				
		2,120	2,804				
		1,080	2,541				
		2,283	< LD				
		1,765	11,421				
		2,411	2,160				
		1,370	1,739				
		1,270	1,258				
		1,071	< LD				
		23,619	4,528				
		118,697	8,364				
		1,005	2,500				
		33,411	6,957				
	Chorito fuera	5,504	5,908	4,201	2,631	9,979	6,900
		6,314	20,560				
		7,572	10,446				
		5,267	10,624				
		9,803	9,025				
		6,073	12,041				
		4,413	7,416				
		1,415	1,299				
		2,451	14,090				
		4,187	10,147				
		0,942	1,842				
		4,050	20,915				
		3,010	21,111				
		0,964	2,485				
		1,048	1,770				
	Algas dentro	0,450	< LD	5,562	9,890	1,926	0,874
		0,275	< LD				
		0,269	< LD				
		0,173	< LD				
		0,719	0,866				
		39,117	2,826				
		2,424	1,119				
		10,903	< LD				
		4,901	< LD				
		2,100	2,472				
		0,687	< LD				
		5,210	< LD				
		9,498	< LD				
		5,471	< LD				
		1,228	2,346				
	Algas fuera	1,903	< LD	1,260	0,911	2,251	1,162
		2,791	< LD				
0,185		< LD					
0,964		1,870					
< LD		< LD					
< LD		< LD					
< LD		< LD					
2,651		3,060					
0,314		4,437					
< LD		0,880					
1,191		1,660					
1,744		1,727					
0,311		< LD					
0,711		< LD					
1,091		2,127					
LD invierno	0,140	0,600					



Continuación tabla 22:

verano	Chorito dentro	0,208	10,221	0,521	0,309	9,672	3,813
		0,745	14,963				
		0,299	3,928				
		0,366	< LD				
		0,158	11,774				
		0,541	15,645				
		0,643	12,687				
		0,473	< LD				
		0,576	5,637				
		0,198	< LD				
		1,125	9,366				
		0,573	4,941				
		1,153	6,926				
		0,543	11,198				
		0,222	8,780				
	Chorito fuera	0,597	2,941	0,853	0,246	11,800	6,565
		1,371	27,340				
		0,786	12,146				
		0,964	16,514				
		0,834	11,370				
		0,975	8,076				
		1,033	18,835				
		0,701	5,896				
		0,541	< LD				
		1,140	8,514				
		0,598	9,212				
		0,786	11,122				
		0,563	3,004				
		0,766	16,194				
		1,139	14,031				
	Algas dentro	0,345	4,198	0,903	0,875	11,223	10,837
		0,295	3,734				
		< LD	< LD				
		1,889	6,568				
		< LD	3,721				
		< LD	< LD				
		0,242	3,922				
		< LD	40,431				
		< LD	5,866				
		< LD	17,857				
		2,154	14,556				
		< LD	10,636				
		0,491	11,965				
< LD		< LD					
< LD		< LD					
Algas fuera	< LD	< LD	0,880	0,201	5,001	2,730	
	< LD	< LD					
	0,738	5,087					
	1,110	3,652					
	< LD	8,728					
	< LD	3,630					
	< LD	< LD					
	< LD	3,073					
	< LD	< LD					
	< LD	2,224					
	< LD	< LD					
	< LD	2,196					
	< LD	< LD					
	0,792	9,241					
	< LD	7,177					
LD verano	0,140	1,900					



Tabla 23. Detalles anclajes de ADCP para evaluaci3n modelo hidrodinámico.

ADCP	Ubicaci3n	Fechas	Intervalo medici3n (s)	Espesor celda (cm)	Profundidad (m)
Curaco de Vélez	-73.620	2012/09/28	600	100	12
	-42.430	2012/10/19			
Linlin	-73.470	2013/11/14	600	200	48
	-42.380	2013/11/24			
Pta. Tutil	-73.720	2012/09/05	600	100	46
	-42.570	2012/09/27			
Isla Tranqui	-73.290	2014/11/26	600	100	58
	-42.930	2014/12/28			
San Pedro	-73.620	2010/12/19	600	100	44
	-43.290	2010/12/31			



Tabla 24. Índices estadísticos de comparación de nivel del mar observado y modelado.

	Comau	Hueihue	Palvidad	Quinchao
RMSE (m)	0,19	0,28	0,16	0,23
NRMSE (%)	4,01	5,86	4,09	5,23
COEF CORR.	0,99	0,98	0,99	0,99



Tabla 25. Empresas salmoneras operando en la Región de Los Lagos en 2015.

Nº	Titular	Sector	Uso de Pintura
1	Australis Seafoods S.A.	Puerto Montt	Si
2	Cermaq Chile S.A.	Chonchi	Si
3	Aquachile S.A.	Puerto Montt	Si
4	Yadran S.A.	Quellón	Si
5	Los Fiordos Ltda.	Puerto Montt	Si
6	Granja Marina Tornagaleones	Puerto Montt	Si
7	Marine Harvest Chile S.A.	Puerto Montt	Si
8	Multiexport Foods S.A.	Puerto Montt	Si
9	Salmones Blumar S.A.	Puerto Montt	Si
10	Salmones Camanchaca S.A.	Puerto Montt	Si
11	Salmones Cupquelan S.A.	Puerto Montt	Si
12	Salmones Frio Sur	Aysén	Si
13	Ventisqueros S.A.	Puerto Montt	Si
14	Caleta Bay S.A.	Osorno	Si
15	Invermar S.A.	Chonchi	Si
16	Salmones Ice Val Ltda.	Aysén	Si
17	Salmones Magallanes S.A.	Puerto Natales	Si
18	Salmones Humboldt Ltda.	Puerto Montt	Si
19	Salmones Antartica S.A.	Dalcahue	Si
20	Salmones Chile S.A.	Chonchi	Si
21	Salmones Aysen S.A.		No
22	Salmones Pacific Star S.A.		No



Tabla 26. Talleres de servicio de impregnación de redes que operan en la Región de Los Lagos en 2015.

Nº	Titular	Sector
1	Servicios Integrales Acuícolas Ltda.	Vilupulli
2	Salmonet	Chonchi
3	Carmen Flores	Puerto Montt
4	Inge Redes Ltda.	Puerto Montt
5	Duran y Compañía Ltda.	Chacao
6	Kaweshkar	Puerto Montt
7	Badinotti Ltda.	Puerto Montt
8	Nisa Redes S.A.	Puerto Montt
9	Aceredes Ltda.	Curaco Vélez
10	Flor Alarcón Mansilla	Notuco
11	Red Mar Ltda.	Mauñín
12	Marmau Ltda.	Puerto Montt
13	Redes Patagonia Austral (Redes Quellón)	Quellón
14	Redes EBH	Puerto Montt
15	Aqua Chiloé Ltda.	Chonchi
16	Redes Nets Ltda.	Puerto Montt



Tabla 27. Centros de cultivo operando en la X, XI, XII regiones durante el 2015.

Región	Centros inscritos	Operaron
X	2247	1602
XI	763	297
XII	106	47



Tabla 28. Identificación de las empresas salmoneras encuestadas que utilizan pinturas antiincrustantes. Se indica especie de cultivo, producciones, centros operativos.

Empresa Salmonera	Localidad	Entrevistado/cargo	Fono	Especie / tiempo cultivo	Produccion salmones (Ton)
Salmones Antartica S.A	Dalcahue	Cesar Mansilla Asistente redes	652642123	Trucha 10 a 12 meses	50.000
Salmones de Chile S.A	Chonchi	Patricio Eugenin Asistente redes	652672274	Trucha y coho 9 a 12 meses	20.000
Invermar S.A	Chonchi	Roberto Llamunao Jefe Redes	93228366	Salar 14 a 18 meses	16.000
Aguas claras	Castro	Mauricio Jefe centro	2632065	coho 9 a 12 meses	s/i
Salmonesa Pacific Star	Quellon	Camilo Diaz Asistente redes	2683814	Trucha, coho, salar 9-12 y 14-16 meses	60.000
Ventisqueros	Pto Montt	Leila Osorio Jefe redes	2569600	Salar y coho 9-12 y 14-16 meses	55.000
Salmones Blumar	Pto Montt	Gabriel Jerez Jefe redes	2347197	Salar 14 a 18 meses	60.000
Ice Val	Aysen	Cristian Velasquez Jefe Operaciones	67-223197	Coho 9 a 12 meses	5.000
Caleta Bay	Osorno	Felipe Oyarzun Gerente Operación	642219400	Trucha 8 meses	6.500
Salmones Magallanes	Punta Arenas	Claudio Vergara	2415735	Salar 14 a 18 meses	19.000
Granja Marina Torneagalones	Pto Montt	Cristian Leiton Jefe redes	2584100	Coho, salar 9-12 y 14-16 meses	s/i
Salmones Frio Sur	Aysen	Carlos Hernandez Jefe Operaciones	988381270	Salar 14 a 18 meses	18.000



Tabla 29. Identificación de las empresas salmoneras encuestadas que utilizan pinturas anti-incrustantes, centros operativos, estructuras de cultivo, marca comercial de la pintura, base y factor de dilución.

Empresa Salmonera	Centros operativos / descanso	Nº modulos y Nº de jaulas por modulo x centro	Pintura antifouling Marca comercial	Base	Factor dilusion
Salmones Antartica S.A	10 operativos 8 descanso	2 modulos y 10 jaulas por centro	Econet SB 1500	Agua	40 % agua
Salmones de Chile S.A	13 operativos 10 descanso	5 centros con 1 modulo de 10 jaulas c/u	Jgoco Sherwin Williams	Agua	30% agua
		8 centros con 2 modulos de 10 jaulas c/u		Agua	25% agua
Invermar S.A	7 operativos 5 descanso	2 modulos y 10 jaulas por centro	Bayer	Agua	30% agua
			Sherwin Williams	Agua	30% agua
			Ceresita	Agua	30% agua
Aguas claras	7 operativos	1 modulo y 20 jaulas por centro	Ceresita Renner	Agua solvente	30% agua 0%
Salmonesa Pacific Star	6 operativos 4 descanso	2 modulos y 12 jaulas por centro	No impregnan	No impregnan	No impregnan
Ventisqueros	12 operativos	2 modulos y 10 jaulas por centro	Bayer	Agua	100%
			Ceresita	Agua	40%
Salmones Blumar	12 operativos	1 y 2 modulos con 10 y 20 jaulas	Renner	Agua	s/i
Ice Val	2 operativos 1 descanso	1 modulo y 16 a 18 jaulas por centro	Sherwin Williams	Agua	100%
Caleta Bay	6 operativos 3 descanso	2 modulos y 18 a 22 jaulas por centro	Steen Hansen	Agua	100%
Salmones Magallanes	7 operativos 28 en descanso	1 y 2 modulos con 8 y 16 jaulas	Sherwin Williams	solvente	12%
Granja Marina Torneagalones	16 operativos 5 descanso	15 jaulas circulares 40 m diametro (1 centro impregnan)	Bayer	Agua	100%
Salmones Frio Sur	7 operativos 20 descanso	1 modulo y 20 jaulas por centro	Bayer	Agua	100%



Tabla 30. Empresas salmoneras, especie de cultivo y litros de pintura usados.

Empresa Salmonera	Especie / tiempo cultivo	Tipo red	Vida útil (tasa recambio) impregnación	Rendimiento pintura (l / k red)	Litros pintura x ciclo produc- tivo x centros operativos
Salmones Antartica S.A	Trucha 10 a 12 meses	Pecera Lobera	2 veces 1 vez	0.50	29.000
Salmones de Chile S.A	Trucha y coho 9 a 12 meses	Pecera Lobera	No impregnan 1 vez	0.69	18.900
Invermar S.A	Salar 14 a 18 meses	Pecera Lobera	2 veces No impregnan	0.60	14.000
Aguas claras	coho 9 a 12 meses	Pecera Lobera	2 veces 1 vez	0,65	20.300
Salmonesa Pacific Star	Trucha, coho, salar 9-12 y 14-16 meses	No impregnan	No impregnan	No impregnan	No impregnan
Ventisqueros	Coho y salar 9-12 y 14-16 meses	Pecera Lobera	1 y 2 veces 1 vez	0.60	70000
Salmones Blumar	Salar 14 a 18 meses	Pecera Lobera	2 veces 2 veces	0.60	115200
Ice Val	Coho 9 a 12 meses	Pecera Lobera	1 vez 1 vez	0,55	17.000
Caleta Bay	Trucha 10 a 12 meses	Pecera Lobera	1 vez 1 vez	0.65	165.072
Salmones Magallanes	Salar 14 a 17 meses	Pecera Lobera	2 veces 1 vez	0.60	336.000
Granja Marina Torneagalones	Coho y salar 9-12 y 14-16 meses	Pecera Lobera	1-2 veces 1-2 veces	0.50	73.373
Salmones Frio Sur	Salar 14 a 18 meses	Pecera Lobera	2 veces 1 vez	0.46	231.000



Tabla 31. Apreciaciones de las empresas salmoneras respecto al uso de pinturas antifouling.

Empresa Salmonera	Servicios externos	Razones de usar pinturas antifouling	Uso de pinturas afecta al medio ambiente?
Salmones Antartica S.A	Servinet	Minimiza estrés, mejora el estado sanitario de los peces	No sabe, no tiene antecedentes
Salmones de Chile S.A	Ace Redes Salmonet	Las pinturas minimizan los focos infecciosos. El proceso de secado mata organismos	Cree que si, pero desconoce los problemas que genera al medio ambiente
Invermar S.A	Marmau, Servinet KawesKar	La impregnacion permite un tiempo de reaccion Al parecer los peces se enferman menos	No sabe, no tiene antecedentes Espera que este estudio le aclare estas dudas
Aguas claras S.A	Servinet Salmonet	Por un tema sanitario es mejor pintar que lavar in situ	Si afectaria, pues se le está incorporando un agente no natural al medio ambiente
Salmonesa Pacific Star	No impregnan	No usan , pero es mejor alternativa que lavar in situ, por un tema operativo. Hay mayor tiempo para reaccionar	No sabe, manifestando que este estudio del IFOP , pudiese aclararselo
Ventisqueros	Kaweskar, Badinotti, Nisa redes Marmau	Minimiza estrés, mejora el estado sanitario de los peces. Hay menos manejos en un centro	Cree que si, pero desconoce los problemas que genera al medio ambiente. Actualmente estan realizando un estudio.
Salmones Blumar	Ace Redes KawesKar	Por un tema sanitario es mejor pintar que lavar in situ Los servicios de lavado a veces no pueden cumplir, y es un riesgo Es mas barato impregnar	Cree que no, puesto que la lixiviacion es casi nula
Ice Val	RDA	Minimiza estrés de los peces. Es mas barato impregnar que lavar in situ o cambia redes	Cree que si, pero desconoce la intensidad del impacto
Caleta Bay	s/i	Es mas barato pintar , ya que su ciclo es corto (8 meses)	Cree que si, pero desconoce la intensidad del impacto
Salmones Magallanes	Quellon Badinotti	Menor estrés para los peces Menor mano de obra Menor impacto M.ambiente Menos enfermedades en peces	Cree que no, puesto que la lixiviacion es casi nula
Granja Marina Torneagalones	Nisa Redes MarMau Salmonet Redes Quellon	Menor estrés para los peces Pero estan disminuyendo los niveles de impregnacion por tema Buenas Practicas para la acuicultura.	Cree que si, pero en forma reducida. La lixiviacion es imperceptible el impacto al medio ambiente
Salmones Frio Sur	Rivalvarez	Cree que lavar es mejor, ya que el mantener las redes con 0% de fouling mejora la produccion (crecimiento mayores mortalidades etc-) Estan evaluando para lavar in situ	Cree que si, pero en forma reducida. La lixiviacion es imperceptible el impacto al medio ambiente En cambio, los baños contra el caligus eso si, es muy dañino

**Tabla 32.** Identificación de los talleres de impregnación encuestados.

Taller de Impregnación	Localidad	Entrevistado/cargo	Fono	Producción promedio por mes
Salmonet S.A	Huillinco	Jose Torres Jefe taller	94997745	350.000 m ² red
Ace Redes S.A	Curaco Velez	Manuel Santander Subgerente comercial	94973226	340.000 m ² red
Servinet Ltda	Pto Montt	Julio Lopez	78977661	90.000 m ² red
MarMau S.A	Pto Montt	Rodrigo Bazan	65-2351562	170.000 m ² red
Red Mar	Pto Montt	Alvaro Aguilar	65-2438737	90.000 m ² red
EBH	Pto Montt	German Casanova	65-2255965	52.300 m ² red
Nisa Redes S.A	Pto Montt	Luis Andrade Vera	65-2276901	70.000 m ² red
Kaweshkar Ltda	Pto Montt	Claudio Silva	65-2271319	350.000 m ² red
Redes Patagonia Austral	Quellon	Juan Carlos Vera	65-2684072	312.500 m ² red



Tabla 33. Pintura anti-incrustantes utilizada en talleres de redes entre diciembre del 2014 a mayo del 2015, en la Región de Los Lagos.

Marca Comercial de Pintura	Tipo de Pintura	Pintura utilizada (L)
Bayer	A base de agua	648.856
Ecoquipsal	A base de agua	27.880
Kupfer	A base de agua	57.880
Renner	A base de agua	303.283
Renner	A base de solvente	132.196
Ceresita	A base de agua	487.120
Ceresita	A base de solvente	18.340
Jgoco	A base de agua	20.000
Sherwin Williams	A base de agua	651.750
	A base de solvente	465.683
Flexabar	A base de agua	90.750
Biodec	A base de solvente	16.345
Aquanet	A base de agua	243.513
Netrex	A base de agua	295.456
Quipasur	A base de agua	15.215
Cerrillos	A base de agua	605.000
Cerrillos	A base de solvente	440.000
Total		4.519.267



Tabla 34. Talleres de impregnación encuestados. Se indica volumen y tipo de pintura utilizada, principio activo, factor de dilución, tiempo de secado, rendimiento, porcentaje de humedad, entre otros.

Taller de Impregnación	Cantidad (L) usada entre diciembre/14 a mayo/15	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo sin diluir (Cu /Zn)	Factor de dilución	Tiempo de secado antes de impregnar	Tiempo de secado después de impregnar	Rendimiento (L/ K de red)	Porcentaje de humedad (%) antes y después de impregnar
Salmonet S.A	5.960	Bayer	Agua		100 % agua	3 a 4 horas	12 a 24 horas	0.52 a 0.56	12 a 16 % antes
	27880	Ecoquipsal	Agua		10 - 25% agua				6% después
	57880	Kupfer	Agua	Oxido Cuproso	10-20 % agua				
	34209	Renner	Agua		10-20 % agua				
	14661	Renner	Solvente		0%				
	13400	Ceresita	Solvente		0%		6 a 8 horas	0.52 a 0.56	
	20000	Jgoco	Agua		10-20 % agua				
Ace Redes	46750	Sherwin Williams	Agua		50% agua	2 a 3 horas	12 a 24 horas	0.6 a 0.7	23 a 25% antes
	46750	Sherwin Williams	solvente		0%		6 a 8 horas	0.6 a 0.7	
	55660	Renner	Agua	Oxido Cuproso	44% agua				
	70840	Renner	Solvente		0%				
	90750	Flexabar	Agua		100 % agua				
	217250	Bayer	Agua		100 % agua				
Servinet Ltda	190350	Ceresita	Agua		30 % agua	6 a 8 horas	12 a 24 horas	0.5 - 0.6	15 a 20%
	82735	Sherwin Williams	Solvente		0%		6 a 8 horas		
	16345	Biodec	Solvente	Oxido Cuproso	0%				
	24067	Bayer	Agua		50% agua				
	34669	Renner	Solvente		0%				
MarMau S.A	288300	Bayer	Agua		100 % agua	8 a 10 horas	16 a 18 horas	0.6 a 0.65	No lo registran



Continuación Tabla 34. Talleres de impregnación encuestados. Se indica volumen y tipo de pintura utilizada, principio activo, factor de dilución, tiempo de secado, rendimiento, porcentaje de humedad, entre otros.

Taller de Impregnación	Cantidad (L) usada entre diciembre/14 a mayo/15	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo sin diluir (Cu /Zn)	Factor de dilución	Tiempo de secado antes de impregnar	Tiempo de secado después de impregnar	Rendimiento (L / K de red)	Porcentaje de humedad (%) antes y después de impregnar
Red Mar	116198	Sherwin Williams	Solvente		0%	4 horas	24 horas	0.6 a 0.65	No lo registran
	4940	Ceresita	Solvente	Oxido Cuproso	0%				
	12026	Renner	Solvente		0%				
EBH	63473	Aquanet	Agua	Oxido Cuproso	100 % agua	4 a 5 horas	12 horas	0.55	No lo registran
	124756	Netrex	Agua		0%				
Nisa Redes S.A	103040	Aquanet	Agua	Oxido Cuproso	100 % agua	4 a 5 horas	3 a 4 horas	0.55	No lo registran
	15215	Quipasur	Agua		100 % agua				
Kaweshkar Ltda	113279	Bayer	Agua		100 % agua	2 a 4 horas	12 a 24 horas	0.6 a 0.7	No lo registran
	131770	Ceresita	Agua	Oxido Cuproso	40 % agua				
	93700	Netrex	Agua		10 % agua				
	213414	Renner	Agua		20% agua				
Redes Patagonia Austral	440000	Cerrillos	Solvente		Sin información				
	220000	Sherwin Williams	Solvente						
	165000	Ceresita	Agua	Oxido Cuproso		4 a 5 horas	12 a 24 horas	0.55	No lo registran
	77000	Aquanet	Agua						
	77000	Netrex	Agua						
	605000	Sherwin Williams	Agua						
	605000	Cerrillos	Agua						



Tabla 35. Apreciaciones de los talleres de impregnación respecto al uso de pinturas antifouling.

Taller de Impregnación	Clientes	Tendencia de Uso de pinturas	Razones de usar pinturas antifouling	¿El uso de pinturas afecta al medio ambiente?
Salmonet S.A.	Aquachile S.A	La tendencia es a no usar pintura.	Minimiza el estrés de los peces, ya que no hay tanto manejo de las redes como en los lavados <i>in situ</i> .	Sí, pero desconoce cuánto, cómo y con qué intensidad afecta.
	Tornagaleones			
	Salmones Chile			
	Australis Mar			
Ace Redes	Salmones Chile	La tendencia es a no usar pintura por tema de costo.	Minimiza el estrés de los peces, ya que no hay tanto manejo de las redes como en los lavados <i>in situ</i> .	Sí, pero no tiene la certeza. Hay factores como el alimento de los salmones y el fouling que se elimina de los lavados que contaminaría más.
	Marine Harvest			
	Salmones Cupquelan			
	Salmones Blumar			
	Salmones Australis			
Servinet Ltda.	Salmones Antartica Aquachile Invermar	La tendencia es a no usar pintura por tema de costo. Y las que usan pintura, eligen las más baratas.	Es mejor pintar por un tema sanitario.	Depende de la concentración de cobre que usen. Hoy no supera el 12 % y esas concentraciones no deberían perjudicar al medio ambiente.
MarMau S.A.	Salmones Humboldt	La tendencia es a no usar pintura por tema de costo. También utilizan desde el 2009 redes Euroline.	Minimiza el estrés de los peces , ya que no hay tanto manejo de las redes como en los lavados <i>in situ</i>	No tiene la certeza. La normativa actual permite 1% que se puede liberar al medio. Desconozco si valores mayores afectan al ecosistema
Red Mar	Aquachile	La tendencia es a no usar pintura por tema de costo.	Es mejor pintar por un tema sanitario.	Es probable, ya que las pinturas están elaboradas con solventes tóxicos que dañarían al ambiente.
EBH	Trusal Cermaq Blumar	La tendencia es a no usar pintura por tema de costo.	El lavado de redes <i>in situ</i> provoca problemas en las agallas y piel de los peces. En cambio, con las pinturas en las redes no ocurre eso	No se ha probado el daño de este metal, pero si del cloro y estaño.
Nisa Redes S.A.	Multiexport	La tendencia es a no usar pintura por tema de costo.	Minimiza el estrés de los peces , y por ende menos probabilidad de enfermedades	El cobre presente en las pinturas que se libera no queda disponible en el ambiente.
	Invermar			
	Tornagaleones			
Kaweshkar Ltda.	Blumar Ventisqueros Cermaq	La tendencia es a no usar pintura por tema de costo.	Minimiza el estrés de los peces, y por ende menos probabilidad de enfermedades. Permite mayor durabilidad de las redes en el tiempo	No tiene la certeza. Aparentemente el cobre se diluye y no afecta al medio ambiente.
Redes Patagonia Austral	Aquachile Cermaq Los Fiordos Yadrán Granja Marina Tornagaleones	La tendencia es a no usar pintura por tema de costo. Cuando la usan eligen de menor calidad.	Minimiza el estrés de los peces, y por ende menos probabilidad de enfermedades. Permite mayor durabilidad de las redes en el tiempo. El lavado de redes muy sucias es más caro que impregnar	No lo sabe.



Tabla 36. Pintura anti-incrustantes utilizada en talleres de redes entre diciembre del 2014 a mayo del 2015, en la Región de Los Lagos.

Marca de Pintura	Total (litros)	Total (%)
Bayer Agua	648856	14,36
Ecoquipsal Agua	27880	0,62
Kupfer agua	57880	1,28
Renner agua	303283	6,71
Renner-solvente	132196	2,93
Ceresita-agua	487120	10,78
Ceresita-solvente	18340	0,41
Jgoco -Agua	20000	0,44
Sherwin Williams agua	651750	14,42
Sherwin Williams solvente	465683	10,30
Flexabar-agua	90750	2,01
Biodec-solvente	16345	0,36
Aquanet agua	243513	5,39
Netrex agua	295456	6,54
Quipasur agua	15215	0,34
Cerrillos agua	605000	13,39
Cerrillos solvente	440000	9,74
Total	4519267	100,00



Tabla 37. Pinturas antiincrustantes utilizadas por las empresas salmoneras por ciclo productivo durante el 2014 al 2015 (X- XI-XII Región).

Empresas salmoneras	pinturas	Total (litros)	Total (%)
Salmones Antartica S.A	Econet SB 1500	29000	3,29
Salmones de Chile S.A	Jgoco	9450	1,07
	Sherwin Williams	9450	1,07
Invermar S.A	Bayer	4900	0,56
	Sherwin Williams	5600	0,63
	Ceresita	3500	0,40
Aguas claras S.A	Ceresita	14210	1,61
	Renner	6090	0,69
Ventisqueros	Bayer	49000	5,56
	Ceresita	21000	2,38
Salmones Blumar	Renner	115200	13,06
Ice Val	Sherwin Williams	17000	1,93
Caleta Bay	Steen Hansen	165072	18,72
Salmones Magallanes	Sherwin Williams	336000	38,10
Granja Marina Torneagalones	Bayer	73373	8,32
Salmones Frio Sur	Bayer,	23100	2,62
		881.945	100



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISIÓN INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA

Tabla 38. Consumo de pinturas por red. Fuente IFOP 2012.

Sistema de Cultivo	Tamaño de las peceras (m ²)	N° de peceras	N° impregnaciones en red pecera	N° impregnaciones en red lobera	Pintura total usada en pecera (l)	Pintura total usada en loberas (l)
balsa jaula rectangular	20 x 20 x16	10	3	2	13407	6596
balsa jaula rectangular	30 x 30 x 16	10	3	2	22500	16664
balsa jaula circular	30	1	3	2	2559	2716
balsa jaula circular	40	1	3	2	3411	5430



Tabla 39. Marca de pintura y concentración de cobre y zinc. Fuente IFOP 2012.

marca de pintura	Cu (mg/L)	Zn (mg/L)
Aquanet cct 100	30,1062	nd
Econet 1500 sb	12,1433	0,0231534145
reall ws	247,0633	0,2114007413
reall ws	0,116	nd
aquanet	56,2003	0,0060400212
ecoquipsal	15,1251	nd
econet 1500 sb	91,1008	0,122813764
a/f solvente	32,7205	nd
flexabar XI	5,7133	0,1288537852
biodeg	2,1608	nd
Aquanet LG100	75,4735	0,0140933828
reall ss -11	4,2334	0,1449605083
Aquanet LG100	3,2247	nd
promedio	44,2600923	0,0930450882



Tabla 40: Concentración de Cu y Zn en pinturas de redes impregnadas con pinturas anti-incrustantes.

tratamiento	replica redes	Cu %	Zn %
antes	1L	2,33	0,08
antes	2L	1,41	0,02
antes	3L	1,38	0,02
antes	4L	1,90	0,04
antes	5L	2,06	0,09
	LD %	0,15	0,00
despues	L1	0,40	0,00
despues	L2	0,62	0,00
despues	L3	1,34	0,00
despues	L4	1,45	0,00
despues	L5	1,29	0,00
	LD, %	0,00	0,00



Tabla 41: Acumulación de cobre y zinc en tejidos de choritos en relación a la concentración en el agua de los bioensayos

Cu ug/L agua	Cu ug/g chorito juvenil	Cu ug/g chorito adulto
3,6	1,69	1,2
11,2	30,87	6,44
18,8	28,12	7,02
34,8	19,91	11,86
284,2	11,73	10,97
510,7	11,73	12,84
760,2	13,71	21,64
1423,7	26,82	38,52
Zn ug/L agua	Zn ug/g chorito juvenil	Zn ug/g chorito adulto
6	6,24	6,08
16	116,2	23,96
23	107,7	23,57
37	62,1	53,15
299	81,2	89,01
599	96,5	102,048
1252	122,6	98,3
4879	154,6	103,42
7719	167	128,94
Cu+zn ug/L agua	Cu ug/g chorito juvenil	Cu ug/g chorito adulto
control	< LD	< LD
control	< LD	< LD
control	< LD	< LD
control	< LD	< LD
control	< LD	< LD
control	< LD	< LD
1,13 zn+0,079 Cu	20,320	2,393
1,13 zn+0,079 Cu	9,375	0,828
1,13 zn+0,079 Cu	1,991	5,495
1,13 zn+0,079 Cu	14,547	3,845
1,13 zn+0,079 Cu	9,124	5,322
Cu+zn ug/L agua	Zn ug/g chorito juvenil	Zn ug/g chorito adulto
control	18,291	11,466
control	16,654	12,281
control	30,161	3,674
control	23,235	13,966
control	40,516	8,376
control	58,929	28,558
1,13 zn+0,079 Cu	55,641	24,149
1,13 zn+0,079 Cu	63,001	40,186
1,13 zn+0,079 Cu	37,855	54,542
1,13 zn+0,079 Cu	45,043	32,553
1,13 zn+0,079 Cu	41,583	46,107



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISI3N INVESTIGACI3N EN ACUICULTURA

Anexos

A N E X O

Encuestas tipo a empresas salmoneras y
talleres de servicio de impregnación



ANEXO

Anexo 1. Encuestas tipo a empresas salmoneras y talleres de servicio de impregnación

USO DE PINTURAS ANTI-INCrustANTES EN EMPRESAS SALMONERAS

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: Salmones Antártica S.A Fecha: 31/7/15
 Fono: 65 2 642 123 Dirección: Sabedra
 Entrevistado: Cesar Incaurilla mall:
 Cargo: Asistente de Operaciones
 Producción total (Ton/año): 50.000 Ton Especie de cultivo: Trucha
 Duración ciclo productivo: 10-12 meses
 Cantidad de años en funcionamiento: desde 1985

Por centros de cultivo producen entre 2500 a 3000 Ton
 2 módulos de 20 saulas y/o.

1.- Aspectos generales actuales:

Generos en piscas y operarios	N° módulos o redes	N° saulas (redes) - Litros	Tamaño de saulas (Ej: 30x30x12)	Tamaño de redes Libras (m ²)	FRUITS anti-incrustante usada (Litros) x ciclo productivo
10 operarios	2	10	30x30x10		Lobera
8 peceros			4 meses		900 litros por 1 red
			30x30x14		Pecera
			8 meses		500 litros x 10 saulas por 2 redes

a) Para redes peceras señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes peceras (pulgadas)	Marca comercial	Baza utilizada	Producto activo	Elemento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (Litros/1000 m ²)	Vida útil de la impregnación (nasa de recambio de redes)
15	Econet	Agua	óxido cuproso	/	40%	0,5 litros	Red Lobera → 1 impregnación
	Concéntrico					Agua x kilo red	Red Pecera → 2 a 3 impregnación

b) Para redes loberas señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (pulgadas)	Marca comercial	Baza utilizada	Producto activo	Elemento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (Litros/1000 m ²)	Vida útil de la impregnación (nasa de recambio de redes)
30	Econet	Agua	óxido cuproso	/	40%	0,5 litros	Red Lobera → 1 impregnación
	Concéntrico					Agua x kilo red	

Por ciclo productivo
 ↓
 1000 litros x 2
 2000 litros



Observaciones: _____

Impregna sus redes con servicios externos?

- a) Sí b) No

Cuales: Servinet

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas antincrustantes. Fundamente su respuesta?

Creo hay un tema sanitario y desu
si impregno mis redes no me llega tanto
a los peces que cuando los lavo, el
manejo de lavado estresa a los peces con f
temente, ya que este se realiza cada 10 o 15 dias.

¿Usted cree que el uso de las pinturas antincrustantes afectan al medio acuático?

- a) Sí b) No

Fundamente: No sabe, no tiene antecedentes
sobre el impacto del uso de estas
pinturas sobre el medio Ambiente.



USO DE PINTURAS ANTI-INCrustANTES EN EMPRESAS SALMONERAS.

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: Salmones de Chile SA Fecha: 26/6/15
 Fono: 065 2672274 Dirección: Quinchí
 Entrevistado: Fabrizio Eugenin mail: peugenin@salmonesdechile.cl
 Cargo: Asistente Operaciones
 Producción total (Ton/año): 20.000 Ton Especie de cultivo: Trucha y salmón coho
 Duración ciclo productivo: Trucha: 10 a 12 meses; coho: 9 a 11 meses
 Cantidad de años en funcionamiento: Desde 1986
Por centro de cultivo producen entre 2500 a 2800 Ton

1.- Aspectos generales actuales:

Centros en desuso y operativos	Nº módulos o redes	Nº jaulas (jaulas) x (m)	Tamaño de jaulas (l) x (b) x (h)	Tamaño de redes loberas (m²)	Pintura anti-incrustante usada (L) x 1000 productivo
13 operativos	5 centros con 1 módulo de 10 jaulas de 30x30	10 jaulas x módulo	30x30		NO pintan reds peceras solo lobera.
10 desuso	8 centros con 2 módulos	10 jaulas x módulo	30x30		1.000 litros de pintura x ciclo productivo. (lobera)

a) Para redes peceras señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes peceras (jaulas)	Marca comercial	Basa utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (L/L o L/m²)	Vida útil de la impregnación (años de recambio de redes)
1		/	/	/	/	/	NO pintan reds peceras
2		/	/	/	/	/	
Otro							

b) Para redes loberas señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (jaulas)	Marca comercial	Basa utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (L/L o L/m²)	Vida útil de la impregnación (años de recambio de redes)
10	Shearwin Williams	Agua	óxido cuproso		1/25%	0,69 litros x tubo red	7 meses en el cultivo.
	Iyoco	Agua			1/30%		El resto del tiempo cambian una red que sin impregnar.
Otro							



Observaciones: ② Solo pintan las peceras, cuando son telas nuevas, ya que así pierden menos tensión.
③ En centros operativos, utilizan 100.000 litros de pintura correspondiente solo a las labores y por ciclo productivo.

Impregna sus redes con servicios externos?

a) Si b) No

Cuales: Accedes, Solmarit.

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas anticrustantes. Fundamente su respuesta?

Porque la red al estar impregnada, minimiza los focos de contaminación (tema sanitario). Además el proceso de secado contribuye con esto.

¿Usted cree que el uso de las pinturas anticrustantes afectan al medio acuático?

a) Si b) No

Fundamente: existe liberación de cobre y eso debiere provocar problemas al medio ambiente. Pero desconozco los problemas que genera.

El 2010 utilizaban 200.000 litros de pintura, correspondiente a 20 centros activos impregnando peceras y labores.

El 2015 utilizan 100.000 para los mismos centros, pero solo pintando labores.

El no impregnar peceras, ha reducido los gastos en un 15%



USO DE PINTURAS ANTI-INCrustANTES EN EMPRESAS SALMONERAS.

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: Invermar S.A Fecha: 3/7/15
 Fono: 9322 83 66 Dirección: Chonchi - Camino Bueilen 15km.
 Entrevistado: Roberto Blumingo mail:
 Cargo: Fe de redes y estructuras de bandos
 Producción total (Ton/año): 16.000 Ton Especie de cultivo: Salas
 Duración ciclo productivo: 14-18 meses (4,2-4,4 kg)
 Cantidad de años en funcionamiento: 1988

1. Aspectos generales actuales:

Centros en desarrollo y operativos	N° módulos o James	N° redes (redes) x (ft)	Tamaño de aguas (Ej: 3' x 20' x 12')	Tamaño de redes loberas (m ²)	Fecha anti-incrustante usada (x ciclo productivo)
<u>7 operativos</u>	<u>2</u>	<u>10</u>	<u>30 x 30 x 12</u> <u>5 meses</u>		<u>2000 litros x ciclo productivo</u>
<u>5 en desarrollo</u>			<u>30 x 30 x 16</u> <u>12 meses</u>		

a) Para redes peceras señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes peceras (impregnadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (litros/m ²)	Vida útil de la impregnación (ciclo de recambio de redes)
①	<u>Bayer</u>	<u>resina sintética</u>	<u>✓</u>		<u>30%</u>	<u>0.60 litros x kilo red</u>	<u>7 meses</u>
②	<u>williams</u>	<u>Agua</u>	<u>✓</u>				<u>2 cambios impregnados</u>
Otro	<u>Ceserita</u>	<u>Agua</u>	<u>✓</u>				<u>de 2'</u>

b) Para redes loberas señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (impregnadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (litros/m ²)	Vida útil de la impregnación (ciclo de recambio de redes)
⑩	<u>/</u>	<u>/</u>	<u>/</u>	<u>/</u>	<u>/</u>	<u>/</u>	<u>No impregnación Usan Eucaline...</u>
Otro							

Red sin impregnación x 1 a 2 meses



Observaciones: Actualmente estan usando polietileno
(Curatone) para las redes fijas y les
permite ver un pez y abarata los costos
(solo las laran)
En las pesquerias impregnan usando Nylon en sus
confecciones

Impregna sus redes con servicios externos?
 a) Si b) No

Cuales: Imas mgu
Opus Chile
Kovasepa
Serinet

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas anticrustantes. Fundamente su respuesta?

Por dos razones: 1) La impregnación de
redes permite un tiempo de reaccion
mayor que las redes sin impregnar
(tiempo operativo)
2) Al poner las peses se enferman menos,
por un menor estrés de las pesces en el
manejo de las redes (entre 1 a 2 cambios en todo el
ciclo productivo)

¿Usted cree que el uso de las pinturas anticrustantes afectan al medio acuático?
a) Si b) No

Fundamento: No lo sé, pues de los 17 años que
trabajo en la industria no lo he
podido comprobar. Espero que este
tipo de estudios ayude a aclarar
estas dudas



1.- Identificación SERVICIO DE IMPREGNACION

Empresa: Salmonet S.A Fecha: 2/7/15
 Fono: 94997445 Dirección: km 3,7. Camino Licap
 Entrevistado: José Torres mail: jt@salmonet.cl
 Cargo: Jefe Taller
 Producción total (Ton red/mes): 300-400 000 m² de red
 Cantidad de años en funcionamiento: 15 años

1) Aspectos generales:

Peces en pajarera	Carbido (L) usado entre diciembre 14 a mayo 15	Marca comercial	Bases utilizadas	Principio activo en el litro (Cu/Zn)	Factor de dilución	Tiempo de secado a los días de impregnación (h, m)	Tiempo de secado después de impregnar (h, m)	Rendimiento (Kg de red)	Forcedaje de humedad (%) antes y después de impregnar
Peces		Bayer	Agua		100%	3 a 4 horas			
1	146.110	Coquipoab	Agua oxido		10-25%	x 3 peseras		~0.52	Antes: 12 a 16%
1.5		Kipfel	Agua oxigenada		10-20%	30 a 30 x 6m		a	Después: 6%
2		consecuente					no aplica	0.56	
Otro		(diluido)	Renover		10-20%		se usa en seco al kilo red		
Loberas			Subred		no se diluye		aire libre		
10*									

⊕ Se deja estirando la red por 12 a 24 horas una vez que ésta se ha sumergido aproximadamente 7 a 15 minutos

2.- EMPRESAS QUE ATIENDE:

Aquachile S.A
Granja Marina Fonopaleares
Salmones de Chile S.A
Australis Mar

Modifican el tipo de pintura de acuerdo a: requerimientos del cliente o venden una estándar

Tendencia de uso: La tendencia de la industria es a no utilizar pinturas; solo por un tema de costo.

Mayor uso, razones: corresponde a un menor precio en el mercado. En este caso; en el verano recién pasado se usó Bayer (H₂O) y Coquipoab (H₂O).

Menor uso, razones:

Observaciones: afos antecedentes. Antes de impregnar una red pesa 1200 kg → 3 peseras
Después de impregnar pesa 1800 kg → 3 peseras
Una lobera antes de impregnar pesa 1200 a 1600 kg x cuerpo
Una lobera después de impregnar pesa 2200-2400 kg x cuerpo



¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling , es a través del uso de pinturas antincrustantes. Fundamente su respuesta?

Es la mejor forma de tener las redes limpias
y con menos antifouling. Menos manejo y
esfuerzo para los peces. No conozco otra
alternativa.
En todo caso las empresas estan tendiendo
a no usarla, solo por un tema de costo.

¿Usted cree que el uso de las pinturas antincrustantes afecta el medio acuático?

a) Si

b) No

Fundamente:

El hecho de que estas pinturas tengan
en su formula cobre, y esto se libera
al medio ambiente, y obviamente que daña
al medio, pero como, donde? en que
intensidad? ... No lo sé.



1.- Identificación SERVICIO DE IMPREGNACION

Empresa: ACE REDES Fecha: 26/6/15
 Fono: 94973226 Dirección: Cesaco de Veloz s/r
 Entrevistado: Manuel Santander mail: Manuel.santander@aceredes.cl
 Cargo: Subgerente Comercial
 Producción total (Ton red/mes): 100.000 kg red/mes.
 Cantidad de años en funcionamiento: _____

1) Aspectos generales:

Redes en pulgares	Caída de L. usada entre operación y almacenamiento	Marca comercial	Bases utilizadas	Principio activo en el agua (g/litro)	Factor de dilución	Tiempo de secado antes de impregnar (redes.k ton)	Tiempo de secado después de impregnar (redes.k ton)	Rendimiento (L/L de red)	Porcentaje de humedad (%) antes y después de impregnar
Peceras									
1		<u>Sherrin</u>	<u>Agua oxida</u>	<u>50% Agua</u>	<u>30% Agua</u>		<u>5h en agua</u>	<u>0.6 g</u>	<u>23 a 25%</u>
1,5	<u>528.000</u>	<u>Renner</u>	<u>Agua oxida</u>	<u>44% Agua</u>	<u>56% Agua</u>		<u>x12 a 24h</u>	<u>0.8 g/km</u>	<u>antes</u>
2		<u>Sherrin</u>	<u>Agua oxida</u>	<u>100%</u>					
Otro	<u>consumidos</u>	<u>Basys</u>	<u>Agua</u>	<u>100%</u>		<u>2 a 3 horas</u>			
Lobos	<u>diluidos</u>								
10 *									

2.- EMPRESAS QUE ATIENDE:

Salmones de Chile
Marine Harvest
Salmones Cupiscotan
Salmones Blythor
Salmones Australis

Modifican el tipo de pintura de acuerdo a: requerimientos del cliente o venden una estándar

Tendencia de uso

La tendencia es a no usar pinturas anti fouling

Mayor uso, razones:

Menor uso, razones:

Observaciones:

Es más barato lavar redes que impregnar entre un 15 a 20%



¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling , es a través del uso de pinturas anticrustantes. Fundamente su respuesta?

Porque hay menos estrés para la peces
ya que las redes no se lavan in situ

¿Usted cree que el uso de las pinturas anticrustantes afecta al medio acuático?

- a) Si b) No

Fundamente: Aun cuando no tengo certeza de
ello, en todo caso creo que hay otros
factores que impactan mas al medio
ambiente, como es el alimento de los salmones
que no es consumido por los peces y el
mismo fouling que se adhiere en las redes
y que posteriormente es eliminado al medio
en los lavados de las redes in situ

USO DE PINTURAS ANTI-INCORUSTANTES EN EMPRESAS SALMONERAS.

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: Pacific Star S.A Fecha: 19/8/15
 Fono: 2683814 Dirección: _____
 Entrevistado: Camilo Diaz mail: camilo.diaz@salmones.ortel.cl
 Cargo: Asistente redes
 Producción total (Ton/año): 60.000 ton Especie de cultivo: lcho, trucha, Salar
 Duración ciclo productivo: lcho-Trucha: 10-12 meses; Salar: 14-16 meses
 Cantidad de años en funcionamiento: _____

1.-Aspectos generales actuales:

Centros en descanso y operativos	N° módulos o trenes	N° jaulas (redes) x tren	Tamaño de jaulas (E) 30 x 30 x 12	Tamaño de redes loberas (m²)	Pintura antincrustante usada (L) x ciclo productivo
<u>6 operativos</u>	<u>2</u>	<u>12</u>	<u>30x30</u>	<u>143x33</u>	<u>0</u>
<u>4 en descanso</u>				<u>x 2 jaula</u>	

a) Para redes peceras señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes peceras (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k), o (l/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
1							
1,5			<u>No</u>	<u>impregnación</u>			
2							
Otro							

b) Para redes loberas señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/K), o (L/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
10							
			<u>No</u>	<u>impregnación</u>			
Otro							

Observaciones:

no impregnan en centros que están cerca. Si lo hacen en los centros que están más alejados, pero desconoce la información de eso.

Impregna sus redes con servicios externos?

- a) Si b) No

Cuales:

No impregnan

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas antincrustantes. Fundamente su respuesta?

Creo que usar pinturas antincrustantes es mejor para mantenerlas libres de fouling, principalmente por ser tema operativo. Menor tiempo para reparaciones, sobre todo en centros alejados.

¿Usted cree que el uso de las pinturas antincrustantes afectan al medio acuático?

- a) Si b) No

Fundamente: No sabe

No he visto estudios que avalen o rechacen el efecto (+o-) en el medio ambiente. Tiene dudas al respecto

USO DE PINTURAS ANTI-INCrustANTES EN EMPRESAS SALMONERAS.

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: Ventispuecos S.A Fecha: Marzo/16
 Fono: 65 25 69600 Dirección: Pto Montt
 Entrevistado Jesús Osorio mail: losorio@ventispuecos.cl
 Cargo Jefe de Redes
 Producción total (Ton/año): 55000 ton Especie de cultivo Salmon y Coho
 Duración ciclo productivo: Salmon 15-17 meses ; coho = 10-12 meses
 Cantidad de años en funcionamiento: _____

1.-Aspectos generales actuales:

Centros en descanso y operativos	N° módulos o trenes	N° jaulas (redes) x tren	Tamaño de jaulas (Ej: 30 x 30 x 12)	Tamaño de redes loberas (m²)	Pintura antiincrustante usada (L) x ciclo productivo
<u>10 centros operativos con salmon</u>	<u>2</u>	<u>10</u>	<u>30 x 30 x 16</u>	<u>Peceras loberas</u>	<u>3200 litros x ciclo</u> <u>3800 litros x ciclo</u>
<u>2 centros operativos con coho</u>	<u>2</u>	<u>10</u>	<u>30 x 30 x 16</u>		

a) Para redes peceras señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes peceras (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k, o (l/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
1		<u>100%</u>					
1,5	<u>Boyer</u>	<u>Agua</u>	<u>Cu 8%</u>		<u>100</u>	<u>0.60</u>	<u>5-7 meses</u>
2	<u>Ceresto</u>	<u>Agua</u>	<u>Cu 8%</u>		<u>40</u>	<u>0.50</u>	
Otro		<u>8 ↓ 40%</u>					

b) Para redes loberas señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/K, o (L/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
10	<u>Boyer</u>	<u>Agua</u>	<u>Cu 8%</u>		<u>100</u>	<u>0.60</u>	<u>10 meses</u>
	<u>Ceresto</u>	<u>Agua</u>	<u>Cu 8%</u>		<u>40</u>	<u>0.50</u>	
Otro							

En invierno usan 8% de óxido cuproso
En verano usan 12% de óxido cuproso

Observaciones: _____

Impregna sus redes con servicios externos?

- a) Si b) No

Cuales: Kawes hkar, Badi notti, Niso Redes
Maíman

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas antincrustantes. Fundamente su respuesta?

Hay menos stress de los peces, cuando
se impregnan las redes, que cuando se lavan.
Eso es positivo para la salud de la producción.
El lavado es igual de caro que la impregnación.
Por tanto, los beneficios de impregnar (temperatura,
manejos etc) superan al lavado in situ

¿Usted cree que el uso de las pinturas antincrustantes afectan al medio acuático?

- a) Si b) No

Fundamente: Cree que sí, pero actualmente
en el centro están realizando experiencias
para delucidar aquello.

USO DE PINTURAS ANTI-INCrustANTES EN EMPRESAS SALMONERAS.

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: Salmones Blumar Fecha: Marzo/16
 Fono: 65 2347197 Dirección: Gu. Pto. Montt
 Entrevistado: Gabriel Jerez mail: Gabriel.jerez@blumar.com
 Cargo: Jef. Redes
 Producción total (Ton/año): 60.000 ton Especie de cultivo: Salar
 Duración ciclo productivo: 16-18 meses
 Cantidad de años en funcionamiento: _____

1.-Aspectos generales actuales:

Centros en descanso y operativos	N° módulos o trenes	N° jaulas (redes) x tren	Tamaño de jaulas (E): 30 x 30 x 12	Tamaño de redes loberas (m²)	Pintura antincrustante usada (L) x ciclo productivo
<u>12 centros operativos</u>	<u>1-2</u>	<u>20 jaulas</u> <u>10 jaulas</u>	<u>30 x 30</u>	<u>30 x 30 x 10.2</u>	
				<u>lobera = 900 x 2 x 2</u>	<u>3600 litros x ciclo</u>
				<u>Pecera = 1000 x 3</u>	<u>3000 litros x ciclo</u>

a) Para redes peceras señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes peceras (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k), o (l/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
<u>1</u>							
<u>1,5</u>	<u>Renner</u>	<u>Agua</u>	<u>13%</u>	<u>-</u>	<u>-</u>	<u>0.55</u>	<u>5-6 meses</u>
<u>2</u>			<u>cu</u>				
Otro							

b) Para redes loberas señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k), o (L/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
<u>10</u>	<u>Renner</u>	<u>Agua</u>	<u>13%</u>	<u>-</u>	<u>-</u>	<u>0.55</u>	<u>10 meses</u> <u>12 meses</u>
			<u>cu</u>				
Otro							

Observaciones: _____

Impregna sus redes con servicios externos?

a) Si b) No

Cuales: Ac. Redes
Koweskar

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas antincrustantes. Fundamente su respuesta?

1) Se dificulta enormemente cuando hay mucha fouling en las redes, puesto que las empresas que lo hacen, generalmente están sobrecargadas de trabajo y no es posible conseguir este servicio
2) Por un tema sanitario, es mejor impregnar que lavar in situ, ya que el lavado genera mucho espesamiento de materia orgánica que es un foco infeccioso. → 3)

¿Usted cree que el uso de las pinturas antincrustantes afectan al medio acuático?

a) Si b) No

Fundamente: La lixiviación es casi nula,
prácticamente no hay erosión en las redes
en cambio, el lavado produce deterioro
en las redes y por ende la vida útil
de ellas, es mejor, causando menor impacto
al medio ambiente por la descarga de materia
orgánica.

→ 3) Es mas conveniente por un tema económico ya q' el lavado significa mayor operación (manejo - traslado etc) y "a lo largo" es mas caro que la impregnación

USO DE PINTURAS ANTI-INCORUSTANTES EN EMPRESAS SALMONERAS.

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: ICE VAL Fecha: Marzo/16
 Fono: 4263 1285 Dirección: Ay Sen
 Entrevistado Cristian Velazquez mail: cristian.velazquez@iceval.cl
 Cargo Jefe operacion
 Producción total (Ton/año): 5000 Especie de cultivo Peto
 Duración ciclo productivo: 9-12
 Cantidad de años en funcionamiento: _____

1.-Aspectos generales actuales:

Centros en descanso y operativos	N° módulos o trenes	N° jaulas (redes) x tren	Tamaño de jaulas (E): 30 x30 x 12	Tamaño de redes loberas (m²)	Pintura antiincrustante usada (L) x ciclo productivo
<u>2 operativos</u> <u>1 descanso</u>	<u>1</u>	<u>16-18</u>	<u>30 x 30</u>	<u>lobos y peceras</u>	<u>8000 x 2 → 14.000 litros</u> <u>4000</u>

a) Para redes peceras señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes peceras (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k, o (l/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
<u>1</u>							
<u>1,5</u>	<u>Semin</u>	<u>Agua</u>	<u>óxido</u>		<u>100</u>	<u>0.55</u>	<u>5-6</u>
<u>2</u>	<u>Willsons</u>		<u>cuproso</u>				
Otro			<u>12%</u>				

b) Para redes loberas señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/K, o (L/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
<u>10</u>							
	<u>Semin</u>	<u>Agua</u>	<u>óxido</u>		<u>100</u>	<u>0.55</u>	<u>9</u>
	<u>Willson</u>		<u>cuproso</u>				
Otro							

Observaciones: _____

Impregna sus redes con servicios externos?

- a) Si b) No

Cuales: _____
 RDA

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas antincrustantes. Fundamente su respuesta?

Minimiza el ester de los peces. Para
nuestra empresa es mas barato impregnar
que lavar

¿Usted cree que el uso de las pinturas antincrustantes afectan al medio acuático?

- a) Si b) No

Fundamente: _____
 Creo que si, pero desconozco los
el consecuencias negativas que puede tener en
el medio ambiente.

USO DE PINTURAS ANTI-INCrustANTES EN EMPRESAS SALMONERAS.

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: Caleta Bay Fecha: Marzo/16
 Fono: 965565570 Dirección: Osaño
 Entrevistado Felipe Oyarzun mail: f.oyarzun@caletabay.cl
 Cargo Gerente Operación
 Producción total (Ton/año): 6500 Ton Especie de cultivo Touche
 Duración ciclo productivo: 8 meses
 Cantidad de años en funcionamiento: _____

1.-Aspectos generales actuales:

Centros en descanso y operativos	N° módulos o trenes	N° jaulas (redes) x tren	Tamaño de jaulas (Ej: 30x30x12)	Tamaño de redes loberas (m²)	Pintura anticrustante usada (L) x ciclo productivo
6 centros operativos	2	18-22 jaulas	30x30	Pecera	19.872 litros x ciclo x centros
3 centros no operativos				Cobera	7.640 litros x ciclo x centros
					27.512 x 6 centros

a) Para redes peceras señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

165072

Redes peceras (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k, o (l/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
1	Steen	Agua	Oxido		100%	0.65	8 meses
1,5	Hansen		expreso				
2							
Otro			8%				

b) Para redes loberas señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k, o (l/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
10	Steen	Agua	oxidado		100%	0.65	8 meses
	Hansen		expreso				
Otro			12%				

Observaciones: _____

Impregna sus redes con servicios externos?

- a) Si b) No

Cuales: _____

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas antincrustantes. Fundamente su respuesta?

Significa un menor costo, ya que su ciclo es solo de 8 meses. Pintan 1 sola vez. Aun cuando estan envejeciendo si comienzan a lavar

¿Usted cree que el uso de las pinturas antincrustantes afectan al medio acuático?

- a) Si b) No

Fundamente: *Hay un elemento que es el cobre que se esta introduciendo al medio, sin embargo, desconoce la intensidad del impacto*

USO DE PINTURAS ANTI-INCrustANTES EN EMPRESAS SALMONERAS.

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: Salmones Magallanes Fecha: Marzo/16
 Fono: 61 241 5735 Dirección: _____
 Entrevistado: Claudio Veigero mail: cveigero@salmonesmagallanes.cl
 Cargo: Jefe operaciones
 Producción total (Ton/año): 19.000 Tm Especie de cultivo: Salón
 Duración ciclo productivo: 14 - 17 meses
 Cantidad de años en funcionamiento: _____

1.-Aspectos generales actuales:

Centros en descanso y operativos	N° módulos o trenes	N° jaulas (redes) x tren	Tamaño de jaulas (E) (30 x 30 x 12)	Tamaño de redes loberas (m ²)	Pintura antiincrustante usada (L) x ciclo productivo
<u>7 centros operativos</u>	<u>1-2</u>	<u>8-16</u>	<u>20x20</u> <u>30x30</u>	<u>-</u>	<u>336.000 Litros en los 96 saules incluida las loberas *</u>
<u>28 centros en descanso</u>					

a) Para redes peceras señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

* 96 saules en toda la empresa. -

Redes peceras (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k), o (l/m ²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
<u>1</u>	<u>Sherrin</u>	<u>solvente</u>	<u>8-12%</u>	<u>-</u>	<u>12%</u>	<u>0.60</u>	<u>5-6 meses</u>
<u>1,5</u>	<u>William</u>	<u>solvente</u>	<u>8-12%</u>	<u>-</u>	<u>12%</u>	<u>0.60</u>	<u>5-6 meses</u>
<u>2</u>			<u>óxido cuproso</u>				
Otro							

b) Para redes loberas señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k), o (l/m ²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
<u>10</u>	<u>Sherrin</u>	<u>solvente</u>	<u>óxido cuproso</u>	<u>-</u>	<u>12%</u>	<u>0.60</u>	<u>10 meses</u>
	<u>William</u>	<u>solvente</u>	<u>8-12%</u>				
Otro							

*₁ = Las redes peceras, se cambian 2 veces durante el ciclo productivo
 *₂ = Las redes loberas, se cambian 1 vez durante el ciclo productivo.

Observaciones: _____

Impregna sus redes con servicios externos?

- a) Si b) No

Cuales: _____
 Quellon
 Bodivoti

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas antincrustantes. Fundamente su respuesta?

Es menos estres para los peces, menor impacto al medio Ambiente, menor mano de obra, menor enfermedades en los peces

¿Usted cree que el uso de las pinturas antincrustantes afectan al medio acuático?

- a) Si b) No

Fundamente: _____
 Puesto que el desprendimiento de la pintura es tan pequeña que no afecta, no hay abrasión en las redes.

USO DE PINTURAS ANTI-INCORUSTANTES EN EMPRESAS SALMONERAS.

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: Granja Acuicola Tornopoleas Fecha: Marzo/16
 Fono: 2584100 Dirección: Pto Huelmo
 Entrevistado Cristian Leyton mail: _____
 Cargo _____
 Producción total (Ton/año): 5/1 Especie de cultivo Chico-Salmon
 Duración ciclo productivo: 4-12 chico; 14-16 meses salmon
 Cantidad de años en funcionamiento: _____

1.-Aspectos generales actuales:

Centros en descanso y operativos	N° módulos o trenes	N° jaulas (redes) x tren	Tamaño de jaulas (Ej: 30 x30 x 12)	Tamaño de redes loberas (m²)	Pintura antiincrustante usada (L) x ciclo productivo
<u>16 operativas</u>	<u>1</u>	<u>15 jaulas circulares</u>	<u>40 metros diametro</u>	<u>-</u>	<u>43373 litros</u>
<u>5 descanso</u>					
<u>solo impregnan en centro</u>					

a) **Para redes peceras** señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes peceras (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k, o (l/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
<u>1</u>							
<u>1,5</u>	<u>Bayjet</u>	<u>Agua</u>	<u>óxido cuproso</u>		<u>100%</u>	<u>0.5</u>	<u>6 meses</u>
<u>2</u>							<u>8 meses</u>
Otro							

b) **Para redes loberas** señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k, o (L/m²)	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
<u>10</u>							
	<u>Bayjet</u>	<u>Agua</u>	<u>óxido cuproso</u>		<u>100%</u>	<u>0.5</u>	<u>10-12 meses</u>
Otro							

Observaciones: _____

Impregna sus redes con servicios externos?

a) Si b) No

Cuales: Nisa Redes, Incur Man, Solmar, redes Quella

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas antincrustantes. Fundamente su respuesta?

Minimiza el estrés de los peces, pero actualmente están disminuyendo el uso de pinturas por en tema de buenos practicos para la acuicultura. Es un compromiso que tiene la empresa. - (X)

¿Usted cree que el uso de las pinturas antincrustantes afectan al medio acuático?

a) Si b) No

Fundamente: Cree que si, pero no sabe la intensidad de ello.

Mencione que una empresa salmonera este dedicate 100% al leguado in situ y ha tenido excelentes resultados productivos, indicando que la buena oxigenación en una zanja trae muchos beneficios a los peces.

USO DE PINTURAS ANTI-INCrustANTES EN EMPRESAS SALMONERAS.

1.- Identificación Empresa de Salmones que usan redes impregnadas

Empresa: Frio Sur Fecha: Marzo/16.
 Fono: 988381270 Dirección: Aysen
 Entrevistado: Carlos Hernandez mail: _____
 Cargo: Jefe Operaciones
 Producción total (Ton/año): 18.000 Ton Especie de cultivo: Salmo
 Duración ciclo productivo: 14-18 meses.
 Cantidad de años en funcionamiento: _____

1.-Aspectos generales actuales:

Centros en descanso y operativos	Nº módulos o trenes	Nº jaulas (redes) x tren	Tamaño de jaulas (E) (30 x 30 x 12)	Tamaño de redes loberas (m ²)	Pintura antiincrustante usada (L) x ciclo productivo
<u>7 operativos</u>	<u>1</u>	<u>20 jaulas</u>	<u>30 x 30</u>	<u>-</u>	<u>... 1000 litros x centros operativos (incluye lobera y pecera)</u>
<u>20 descanso</u>					

a) Para redes peceras señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes peceras (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k, o (l/m ²))	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
<u>1</u>							
<u>1,5</u>	<u>Bayer</u>	<u>Agua</u>	<u>óxido cuproso</u>		<u>100%</u>	<u>0.46</u>	<u>5-8 meses</u>
<u>2</u>			<u>14%</u>				
Otro							

b) Para redes loberas señale lo que usa en pinturas anti-incrustantes:

Redes loberas (pulgadas)	Marca comercial	Base utilizada	Principio activo	Pigmento	Factor de dilución	Rendimiento de la pintura en la red (l/k, o (L/m ²))	Vida útil de la impregnación (tasa de recambio de redes)
<u>10</u>							
	<u>Bayer</u>	<u>Agua</u>	<u>óxido cuproso</u>		<u>100%</u>	<u>0.46</u>	<u>10-12 meses.</u>
			<u>14%</u>				
Otro							

Observaciones: _____

Impregna sus redes con servicios externos?

- a) Si b) No

Cuales: _____
RDA

¿Por que considera que la mejor forma de mantener limpias las redes de fouling en su centro, es a través del uso de pinturas antincrustantes. Fundamente su respuesta?

Cree que es mejor lavarlas in situ que in pregna, ya que el lavado asegura que se limpie al 100% y eso trae beneficios significativos a la producción.

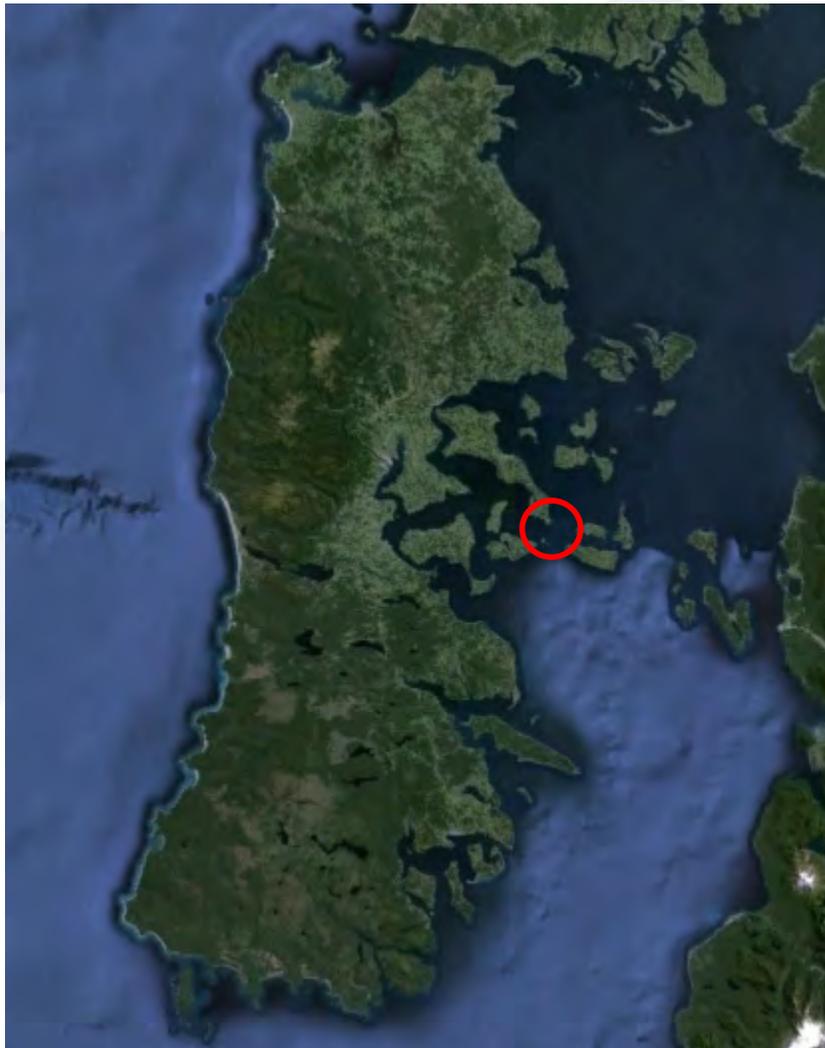
¿Usted cree que el uso de las pinturas antincrustantes afectan al medio acuático?

- a) Si b) No

Fundamente: _____
Es un agente externo, pero cree es muy pequeño el efecto. Si, los bichos de Colipus son muy peligrosos para el medio ambiente

INFORME DE FONDEO CORRENTOMETRO SECTOR: CHEQUIÁN

SOLICITANTE: IFOP
EJECUTOR: CETECESAL S.A.



Fecha de FONDEO
Equipo Utilizado

19-01-2016
Perfilador Acústico Nortek
Aquadopp 400k Hz

1 Antecedentes Generales

El presente informe corresponde a la descripción del Fondeo del correntómetro en el sector de Punta Chequián al Sur de la Isla de Quinchao, provincia de Chiloé con el objeto de realizar un monitoreo de la corriente (magnitud y dirección) de la columna de agua del sector por un período de 30 días.

1.1 Ubicación Correntómetro:

El Equipo fue fondeado en el área ubicada al SE de Punta Chequián; según se indica en la Figura 1

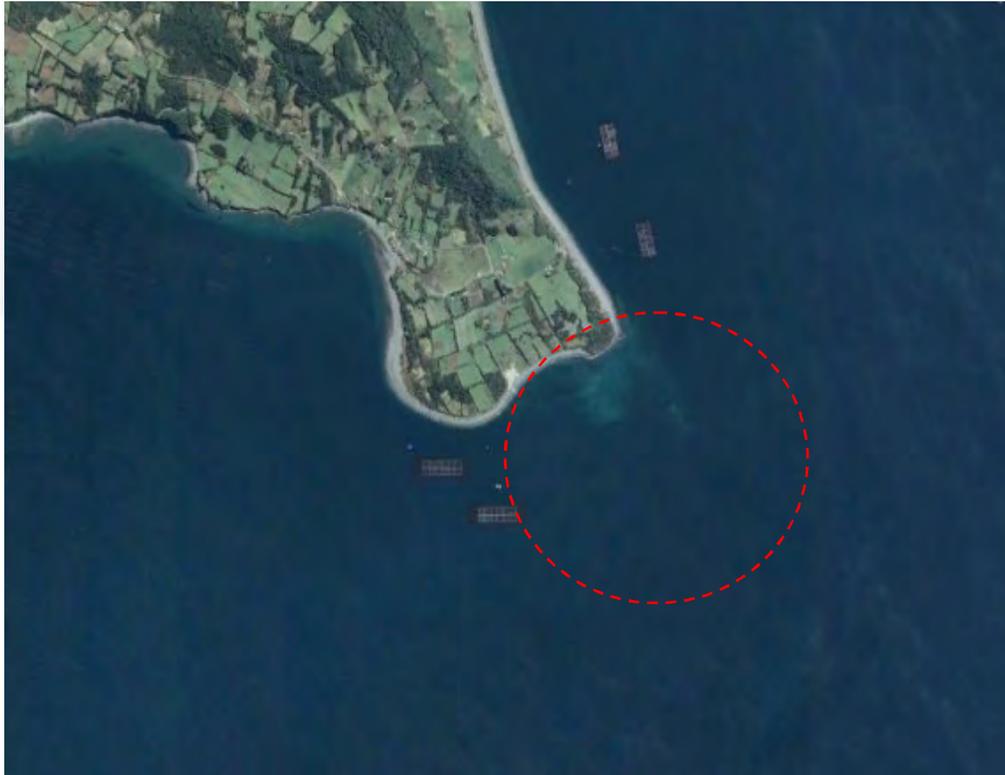


Figura 1: Ubicación del correntómetro, al SE de punta Chequián.

2 Metodología

En el contexto de determinar el comportamiento del cuerpo de agua, se programó el monitoreo durante 30 días de la magnitud y dirección de las corrientes en un punto fijo en el sitio a prospectar. Para realizar el registro de la correntometría euleriana se utilizó un Correntómetro Perfilador Acústico Doppler marca Nortek modelo Aquadopp de 400 KHz., el que posee una exactitud de $\pm 0,5$ cm/s en la magnitud de la corriente y $\pm 2^\circ$ en la dirección. El fondeo del equipo se realizó el día 19 de Enero de 2016 y se programó abarcando los 30 días de medición continua y 45 celdas de 2 m., según lo que establece el punto v. letra B Numeral 23 de la Res. EXE. 3612/2009.

La maniobra de fondeo del instrumento se realizó con el apoyo de una embarcación proporcionada por CETECESAL S.A. El anclaje de los muertos fue realizado entre los veriles de 70 y 80 metros. Se fondea con 3 pesos, dos de 80 kilos y uno de 60 kilos, con una maniobra de fondeo en línea, con boyas a media agua y con línea de recuperación de 200 metros orientada hacia el NNE con un peso de recuperación de 30 kilos en el extremo opuesto al equipo y con una boya en la línea a unos 30 metros desde el peso de recuperación, como se muestra en la figura 2.

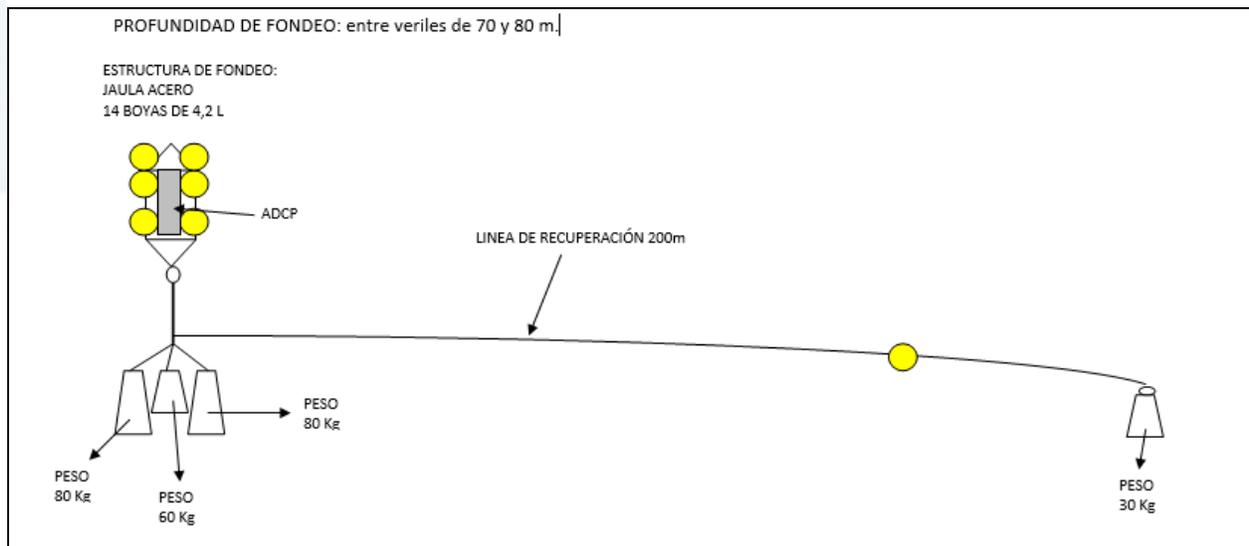


Figura 2: Esquema de fondeo en línea ADCP.

3 Recuperación:

Para realizar la maniobra de recuperación del equipo, luego de transcurridos los 30 días de medición, se esperaron condiciones climáticas óptimas, situación que ha sido ejecutada ya en 4 oportunidades las que se describen a continuación.

El primer intento de recuperación se realizó el 24 de Febrero, utilizando una araña como técnica de búsqueda, realizando pasadas transversales por sobre la línea de recuperación en ambos sentidos, incluyendo pasadas por sobre el punto de fondeo. Cada pasada con la araña en el fondo se extendió unos 200 metros. En la zona cercana al peso de recuperación se realizaron intentos de pasadas con la araña, lo que resultó infructuoso debido a que el tipo de fondo dificultó esta maniobra (rocoso y con grietas).

Al día siguiente, se intentó recuperar el equipo nuevamente, utilizando la misma técnica de arrastre con araña, pero extendiendo el radio de búsqueda hacia el lado Sur del punto de Fondeo. Adicionalmente se intentó la búsqueda utilizando una cámara submarina, pero las condiciones de viento y corriente imperantes en el momento dificultaron la ejecución de esta maniobra.

El tercer intento de recuperación se realizó el día 29 de Febrero, utilizando nuevamente la técnica de arrastre con araña, pero además se utilizó el sistema de giro sobre el punto de fondeo manteniendo la araña fija al fondo, girando sobre un mismo eje con el fin de envolver la línea si es que esta estuviera cortada y se encontrara a media agua para que al momento de levantar la araña, esta pudiera enganchar el cabo. Este sistema también resultó infructuoso y nuevamente la alta energía provocada por la marea en su fase creciente dificultó la ejecución de las maniobras.

El cuarto intento se realizó el 07 de Marzo, en esta ocasión se emplea la técnica de barrido, esto significó extender una línea de unos 50 metros entre dos embarcaciones por sobre el fondo, con peso suficiente para mantenerla en el fondo y con un sistema de avance en paralelo tratar de enganchar la estructura del equipo. Para el montaje de esta técnica se utilizó un cable de acero de aproximadamente 6 mm y cabo. Las pasadas sobre el área de búsqueda se realizaron en los momentos de merma o para de marea. Finalmente con este sistema, tampoco se logró el objetivo de recuperación del equipo.

Actualmente, se encuentra en ejecución la planificación de un quinto intento de búsqueda consistente en realizar un barrido en un área de aproximadamente 500 metros alrededor del punto de fondeo del correntómetro utilizando una cámara submarina

arrastrada en período de cuadratura, a una profundidad en la columna que permita visualizar el fondo y eventualmente localizar el punto donde se encuentra el equipo, para cubrir el área de 500 metros se trazará una grilla con pasadas longitudinales y transversales separadas aproximadamente 10 metros una de otra.

Informe realizado por:



Karla Ballesteros Triviño
Biólogo Marino
Gestor Ambiental
Cetecsal S.A.

Informe revisado y validado por:



Jaime Alarcón Valenzuela.
Biólogo Marino
Jefe de medio Ambiente
Cetecsal S.A.

**“ANÁLISIS DE COBRE Y CINC EN MUESTRAS DE AGUA, CHORITOS,
ALGAS, MALLAS Y SEDIMENTO”**

INFORME TÉCNICO

Fecha: 12 de Mayo de 2016

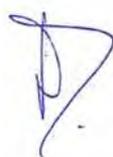
**Preparada para
INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO
IFOP**

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

1.- Identificación del proponente

1.- Título del Estudio	Análisis de Cobre y Cinc en muestras de agua, choritos, algas, mallas y Sedimento
2.- Profesionales responsables	María Victoria Letelier Solar, División Ingeniería en Minería, Dictuc. Eduardo Elizalde, División Ingeniería en Minería, Dictuc.
3.- Antecedentes de la Institución investigadora	DICTUC S.A. 96.691.330-4 Vicuña Mackenna N° 4860, Casilla 306 – Correo 22, Macul - Santiago
4.- Antecedentes de la Institución Mandante	Instituto de Fomento Pesquero 61.310.000-8 Blanco N° 839, Valparaíso e-mail: projas@ifop.cl
5.- Contraparte Técnica	Departamento de Medio Ambiente del Instituto de Fomento Pesquero Rodrigo Vera: rodrigo.vera@ifop.cl Enrique Bay Schmith: ebayschm@udec.cl
6.- Resumen	El presente informe entrega un resumen de las actividades desarrolladas por el Laboratorio de Metales Trazas de Dictuc, y los resultados obtenidos del análisis de muestras de diversas matrices.



Sra. María Victoria Letelier
Laboratorio Metales Traza
DICTUC S.A.

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

Contenidos

1.- Identificación del proponente.....	2
Contenidos	3
RESUMEN EJECUTIVO	4
2.- Objetivo y Alcance de los Servicios.....	4
3.- Manejo y tratamiento de las muestras	4
3.1 Tratamiento muestras de agua	5
3.2 Tratamiento de muestras matriz biológica	6
3.3 Tratamiento de muestras en matriz sedimento.....	6
3.4 Tratamiento de mallas.....	6
4.- Equipamiento y control de calidad	6
5.- Resumen de Resultados	7
5.1.- Matriz Agua.....	8
5.2 Algas y Choritos	12
5.3 Sedimentos	22
5.4 Mallas.....	24

RESUMEN EJECUTIVO

El Instituto de Fomento Pesquero, solicitó a Dictuc llevar a cabo análisis químicos a diversas matrices, entre ellas, aguas de mar, choritos, algas, sedimentos y mallas, para análisis de cobre y cinc. Muestras de choritos puestas en contacto con aguas de diferentes concentraciones de cobre y cinc, así como aguas sintéticas, enviadas desde la Universidad de Concepción (UdeC), también fueron analizadas en el laboratorio. Las muestras fueron recibidas en dos períodos, los que se catalogaron como muestreo 1 y 2.

En el presente informe se documenta respecto del manejo de las muestras por parte del laboratorio. Se entregan además los límites de detección y cuantificación de las dos etapas de análisis.

2.- Objetivo y Alcance de los Servicios

El objetivo del servicio entregado por el laboratorio de análisis químico de metales traza del departamento de Ingeniería de Minería fue determinar las concentraciones de cobre y cinc en muestras inorgánicas y biológicas.

3.- Manejo y tratamiento de las muestras

Las muestras provenientes de las 2 campañas de muestreo fueron recibidas en 2 etapas, mientras que las muestras provenientes de la Universidad de Concepción (muestras de aguas artificiales y muestras de choritos puestos en contacto con aguas sintéticas dosificadas con CuSO_4 y ZnSO_4) se recibieron intermitentemente durante el período de desarrollo del servicio.

El total de muestras ingresadas al laboratorio fue de 512 muestras, desglosadas según el siguiente detalle:

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

Tabla 1: Número de muestras recibidas para análisis

Tipo de muestra	Muestreo 1	Muestreo 2	Total
Agua de mar	32	32	64
Choritos	31	30	61
Algas	31	30	61
Sedimentos	40	45	85
Mallas	10	5	15
Aguas sintéticas	36	0	36
Choritos UdeC	125	65	190

Las muestras de agua, sedimentos, mallas, algas y choritos entregadas por IFOP, y correctamente identificadas, fueron ingresadas en el libro de recepción de muestras y almacenadas en refrigerador a 4 +/- 0,1 C, en bodega, y en congelador a -20 +/- 0,5 C, respectivamente.

Cobre y cinc fueron a analizados por ICP-MS en equipo Perkin Elmer, modelo ELAN 9000, ubicado en sala limpia clase 1000.

3.1 Tratamiento muestras de agua

Tanto muestras de agua de mar como muestras de agua sintéticas fueron almacenadas a 4 C. Previo a su análisis por ICP-MS las muestras fueron filtradas con membrana 0,45um y acidificadas con HNO₃ bidestilado al 0,2%. Un blanco fue llevado paralelamente al vaciar 100uL de HNO₃ bidestilado a matraz de aforo de 50ml y filtrar bajo membrana de 0,45um.

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

3.2 Tratamiento de muestras matriz biológica

Las muestras de choritos y algas fueron tratadas de acuerdo a método EPA 3051 "Digestión acida asistida por microondas de muestras sólidas.

Las muestras de tejido muscular fueron sacadas desde el congelador a primera hora de la mañana para ser comenzadas a tratar a medio día. Las muestras fueron homogenizadas mediante el uso de un sistema de cuchillas plásticas. Se tomaron entre 0,2 y 0,4 g de muestra homogenizada la cual fue colocada en un vaso de teflón y se le adicionaron 6 ml de ácido nítrico bi-destilado. Se realizó la digestión en microondas. Los extractos obtenidos se enfriaron a temperatura ambiente, y fueron llevados a un volumen final de 50 ml con agua calidad miliQ. Luego las muestras fueron filtradas a través de membrana 0,45um. Un blanco fue llevado paralelamente al digerir 6 ml de HNO₃ bidestilado, aforado a 50ml y filtrado bajo membrana de 0,45um.

El digestado filtrado fue traspasado a tubos falcon para su posterior lectura por ICP-MS.

3.3 Tratamiento de muestras en matriz sedimento

Las muestras de sedimento fueron tratadas de acuerdo a método EPA 3051 "Digestión acida asistida por microondas de muestras sólidas. Una masa de 0,2 g de muestra fue digerida en digestor microondas con 6 ml de ácido nítrico bi-destilado, aforadas a 50 ml con agua purificada, filtradas a través de membrana 0,45 um, y llevadas a tubos falcon para su posterior lectura por ICP-MS. Un blanco fue llevado paralelamente al digerir 6 ml de HNO₃ bidestilado, aforado a 50ml y filtrado bajo membrana de 0,45um.

3.4 Tratamiento de mallas

Una masa aproximada de 0,4 g de malla, cortada con cuchillo cerámico, fue llevada a disolución mediante lixiviación en solución de ácido sulfúrico al 5%. Para lo anterior, el trozo de malla fue llevado a matraz de 200ml y lixiviado con 50ml de H₂SO₄ al 5% durante 1 hora. Luego de esto, la solución lixiviada fue aforada a 200ml con agua purificada y filtrada a través de membrana de 0,45um. Un blanco fue llevado paralelamente al vaciar 12,5mL de H₂SO₄ al 5% a matraz de aforo de 50ml y filtrar bajo membrana de 0,45um. Dada las altas concentraciones de cobre en mallas, las muestras fueron analizadas por absorción atómica para cobre y por ICP-MS para cinc.

4.- Equipamiento y control de calidad

Para el tratamiento de las muestras y análisis químico, el laboratorio de Dictuc contó con sala limpia clase 1000 equipada con filtros HEPA (High-efficiency particulate air) de 99,99% de eficiencia. Y los siguientes equipos.

- Espectrofotómetro de absorción atómica, marca Perkin Elmer, modelo Analyst 100

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

- Plasma acoplado inductivamente con detector de masas, marca Perkin Elmer, modelo ELAN 9000
- Digestor microondas marca CEM

Sistema purificador de agua marca Labostar 2 DI/UV el cual genera agua pura con una resistividad de 18,2 MΩ cm y niveles de TOC ultrabajos (< 0.02ppm).

Todos los materiales utilizados para la manipulación de las muestras analizadas fueron no metálicos, eliminando de esta forma la posible contaminación de las muestras. En especial para el corte de muestras biológicas como algas y choritos se emplearon cuchillos con hoja de cerámica.

Las muestras fueron manejadas de manera de asegurar la calidad del análisis. La utilización del correcto envase para almacenar la muestra, lavado de los envases, condiciones de almacenamiento de la muestra y tiempo máximo de almacenamiento de éstas, fueron seguidos de acuerdo a lo especificado por 40CFR, parte 136. Los procedimientos llevados a cabo en el laboratorio de Dictuc contaron con aseguramiento y control de la calidad (QA/QC).

Como criterio de aceptación para el análisis de cualquier analito, se rechazó el resultado de un análisis en duplicado si éste tuvo una desviación estándar superior al 10%.

El límite de detección del método fue determinado leyendo 3 veces los estándares y blanco de curva, como muestras. Se calculó el error típico y pendiente entre los valores teóricos y reales. El límite de detección correspondió a 3 veces el cociente entre error típico y la pendiente.

5.- Resumen de Resultados

En las tablas siguientes se muestran los resultados obtenidos para los metales analizados en cada una de las matrices consideradas y con sus respectivos límites de detección y la recuperación entre duplicados. Se entregan los resultados manteniendo los grupos de muestras en que fueron llegando al laboratorio.

5.1.- Matriz Agua

Tabla 2.- Concentraciones de Cu y Zn en muestras de agua de mar

Código Muestra	Identificación original	Identificación extra en envase	Cu, ug/L	Zn, ug/L	Recup -10 < X < 10	
					Cu, %	Zn, %
E1,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	27,624	1,665		
E1,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	31,004	2,027		
E2,1	Aguas 1m sobre fondo	08-09-2015	34,842	0,715		
E2,2	Aguas 20 m	08-09-2015	36,761	0,714		
E3,1	Aguas 1m sobre fondo	08-09-2015	49,711	0,856		
E3,2	Aguas 20 m	08-09-2015	44,529	< LD		
E4,1	Aguas 1m sobre fondo	08-09-2015	43,908	< LD		
E4,2	Aguas 20 m	Prof 2 08-09-2015	41,885	< LD		
E5,1	Aguas 1m sobre fondo	08-09-2015	42,356	< LD		
E5,2	Aguas 20 m	08-09-2015	42,171	< LD		
E6,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	39,148	1,825		
E6,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	30,403	2,254		
E7,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	37,186	2,465		
E7,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	40,267	2,657		
E8,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	41,854	0,878		
E8,1 Dup	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	43,104	0,870	-2,9	0,9
E8,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	44,334	0,856		
E9,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	43,424	0,928		
E9,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	43,277	1,172		
E10,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	42,953	1,772		
E10,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	36,105	1,818		
E11,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	32,803	2,117		
E11,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	38,094	2,233		
E12,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	39,758	1,459		
E12,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	39,676	1,378		
E12,2 Dup	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	42,469	1,298	-6,8	6,0
E13,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15 (10m)	40,966	2,126		
E13,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	37,524	2,190		
E14,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	39,114	1,569		
E14,1 Dup	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	42,328	1,676	-7,9	-6,6
E14,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	40,350	1,476		
E15,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	42,027	1,454		
E15,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	42,366	1,557		
E16,1	Aguas 1m sobre fondo	PAI 15/09/15	42,986	1,301		
E16,2	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	41,296	1,851		
E16,2 Dup	Aguas 20 m	PAI 15/09/15	40,168	1,939	2,8	-4,6
LD			0,635	0,700		

Tabla 3.- Concentraciones de Cu y Zn en muestras de agua sintética

Código Muestra	Identificación extra	Concentración	
		Cu, ug/L	Zn, ug/L
ToCo	1,95 mg/L ZnO	10,459	17,245
ToC1	factor 0,5 mg/L de C9	30,759	2819,945
ToC2	factor 0,5 mg/L de C9	24,459	3100,945
ToC3	factor 0,5 mg/L de C9	18,459	2839,945
ToC4	factor 0,5 mg/L de C9	43,259	2709,945
ToC5	factor 0,5 mg/L de C9	18,359	2989,945
ToC6	factor 0,5 mg/L de C9	21,359	2959,945
ToC7	factor 0,5 mg/L de C9	19,059	2829,945
ToC8	factor 0,5 mg/L de C9	18,759	3329,945
ToC9	500 mg/L ZnO	18,659	2819,945
To Zn 0,975 mg/L	0,975 mg/L ZnO	11,959	1429,945
To Zn 0,48 mg/L	0,48 mg/L ZnO	14,759	2209,945
LD		0,56	2,400

Tabla 4.- Concentraciones de Cu y Zn en muestras de agua sintética

Código Muestra	Concentración	
	Cu, ug/L	Zn, ug/L
Co CuSO4	3,595	< LD
C1 CuSO4	11,217	7,76
C2 CuSO4	18,839	7,142
C3 CuSO4	34,815	6,589
C4 CuSO4	284,22	34,26
C5 CuSO4	510,69	27,19
C6 CuSO4	760,19	28,19
C7 CuSO4	1423,72	29,01
T7C1 CuSO4	28,741	< LD
T7C3 CuSO4	82,43	24,58
T7C5 CuSO4	282,85	35,79
T7C7 CuSO4	1111,91	32,55
LD, ug/L	1,261	6,407

Tabla 5.- Concentraciones de Cu y Zn en muestras de agua sintética

Código Muestra	Concentración	
	Cu, ug/L	Zn, ug/L
T7C1 CuSO4-P	10,164	9,195
T7C4 CuSO4-P	197	75,03
LD, ug/L	1,261	6,407

Tabla 6.- Concentraciones de Cu y Zn en muestras de agua sintética

Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/L	Zn, ug/L	Cu, %	Zn, %
Co ZnSO4	3,667	6,429		
C1 ZnSO4	3,568	15,994		
C2 ZnSO4	3,627	22,959		
C3 ZnSO4	3,727	37,463		
C4 ZnSO4	19,13	299,18		
C5 ZnSO4	26,9	599,29		
C6 ZnSO4	17,45	1251,72		
C7 ZnSO4	34,7	4878,7		
C7 ZnSO4 Dup	38,2	4686,7	-9,6	4,0
C8 ZnSO4	1325	4659,7		
C9 ZnSO4	39,7	20316,8		
C9 ZnSO4 Dup	38,3	19216,9	3,6	5,6
LD, ug/L	1,261	6,407		

Tabla 7.- Concentraciones de Cu y Zn en agua de mar

Código Muestra	Cu, ug/L	Zn, ug/L
1.1	3,475	5,840
1.2	4,058	6,116
2.1	4,083	6,323
2.2	4,593	6,040
3.1	4,108	5,206
3.2	2,802	4,363
4.1	3,216	4,513
4.2	3,565	5,163
5.1	3,733	5,015
5.2	3,230	3,661
6.1	4,115	7,271
6.2	3,466	4,927
7.1	4,019	4,765
7.2	3,344	4,214
8.1	2,885	3,824
8.2	3,049	4,110
9.1	2,463	3,062
9.2	3,500	4,259
10.1	3,681	6,191
10.2	2,442	3,246
11.1	3,281	4,115
11.2	3,006	3,800
12.1	3,672	4,182
12.2	3,425	3,642
13.1	3,324	5,660
13.2	3,663	5,662
14.1	3,224	4,129
14.2	3,335	3,556
15.1	3,458	4,541
15.2	4,460	4,691
16.1	2,546	3,909
16.2	3,396	5,568
LD, ug/L	1,343	0,292

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

5.2 Algas y Choritos

Tabla 8.- Concentraciones de Cu y Zn en choritos y algas

Código Muestra	Identificación original	Identificación extra en envase	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Recup -10 < X < 10	
					Cu, %	Zn, %
Chorito	Fuera concesion (80 gr aprox)	15-09-2015	1,048	1,770		
Chorito	Dentro Concesion (80 gr aprox)	15-09-2015	1,005	2,500		
Chorito	Dentro Concesion (80 gr aprox) Dup	15-09-2015	1,061	2,340	-5,4	6,6
Alga	C1, Dentro concesion	15-09-2015	0,719	0,866		
Alga	C1, Dentro concesion Dup	15-09-2015	0,777	0,842	-7,8	2,8
Alga	C2, Dentro concesion	15-09-2015	2,100	2,472		
Alga	C3, Dentro concesion	buceo	1,228	2,346		
Alga	1, Fuera concesion	15-09-2015	0,964	1,870		
Alga	2, Fuera concesion		2,651	3,060		
Alga	3, Fuera concesion	15-09-2015	1,744	1,727		
Alga	4, Fuera concesion	Buceo dentro concesión, 15-09-2015	1,091	2,127		

Tabla 9.- Concentraciones de Cu y Zn en choritos y algas

Código Muestra	Cu, ug/g	Zn, ug/g
Chorito dentro concesión	2,427	8,808
	1,596	2,333
	1,885	2,238
	2,120	2,804
	1,080	2,541
	2,283	< LD
	1,765	11,421
	2,411	2,160
	1,370	1,739
	1,270	1,258
	1,071	< LD
	23,619	4,528
	118,697	8,364
33,411	6,957	
Chorito fuera concesión	5,504	5,908
	6,314	20,560
	7,572	10,446
	5,267	10,624
	9,803	9,025
	6,073	12,041
	4,413	7,416
	1,415	1,299
	2,451	14,090
	4,187	10,147
	0,942	1,842
	4,050	20,915
	3,010	21,111
0,964	2,485	
Algas dentro C1	0,450	< LD
	0,275	< LD
	0,269	< LD
	0,173	< LD
Algas dentro C2	39,117	2,826
	2,424	1,119
	10,903	< LD
	4,901	< LD
Algas dentro C3	0,687	< LD
	5,210	< LD
	9,498	< LD
Algas fuera concesión 1	5,471	< LD
	1,903	< LD
	2,791	< LD
Algas fuera concesión 2	0,185	< LD
	< LD	< LD
	0,060	< LD
Algas fuera concesión 3	< LD	< LD
	0,314	4,437
	0,124	0,880
Algas fuera concesión 4	1,191	1,660
	0,311	< LD
	0,711	< LD
LD, ug/g	0,140	0,600

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

Tabla 10.- Concentraciones de Cu y Zn en choritos enviados por la UdeC

Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
Co-1	0,762	9,438		
Co-1 Dup	0,844	9,929	-10,1	-5,1
Co-2	0,957	12,577		
Co-3	1,753	28,364		
Co-4	1,662	9,798		
Co-5	1,208	12,674		
C1-1	9,962	< LD		
C1-2	3,804	7,087		
C1-3	6,357	6,622		
C1-3 Dup	6,709	6,838	-5,4	-3,2
C1-4	5,680	21,370		
C1-5	6,442	39,608		
C2-1	2,368	22,447		
C2-2	4,544	10,346		
C2-3	17,089	20,995		
C2-4	5,539	9,429		
C2-5	5,598	10,501		
C2-5 Dup	5,547	10,906	0,9	-3,8
C3-1	9,098	24,914		
C3-2	13,638	23,669		
C3-3	17,484	23,046		
C3-3 Dup	19,123	20,942	-9,0	9,6
C3-4	15,602	22,534		
C3-5	3,500	25,985		
C4-1	7,925	23,932		
C4-1 Dup	8,716	24,695	-9,5	-3,1
C4-2	11,332	28,822		
C4-3	14,353	53,092		
C4-4	14,852	36,642		
C4-5	6,410	24,075		
C5-1	22,513	11,898		
C5-2	5,592	20,347		
C5-2 Dup	6,019	20,773	-7,4	-2,1
C5-3	5,945	36,285		
C5-4	6,639	17,694		
C5-5	23,510	32,341		
C6-1	6,904	15,903		
C6-2	44,599	11,548		
C6-3	28,165	33,712		
C6-4	15,666	14,757		
C6-5	12,908	15,150		
C6-5 Dup	13,235	14,346	-2,5	5,4
C7-1	25,744	27,190		
C7-2	35,872	8,131		
C7-3	43,281	19,885		
C7-3 Dup	47,285	20,611	-8,8	-3,6
C7-4	43,417	24,642		
C7-5	44,288	15,634		
LD, ug/g	0,210	1,068		

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

Tabla 11.- Concentraciones de Cu y Zn en choritos enviados por la UdeC

Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
Co-1 CuSO4-P	1,391	< LD		
Co-2 CuSO4-P	1,600	11,419		
Co-3 CuSO4-P	1,235	16,333		
Co-4 CuSO4-P	2,892	14,292		
Co-5 CuSO4-P	1,352	8,196		
Co-5 CuSO4-P Dup	1,288	7,567	4,8	8,0
C1-1 CuSO4-P	25,838	10,710		
C1-1 CuSO4-P Dup	25,937	11,053	-0,4	-3,2
C1-2 CuSO4-P	42,682	21,885		
C1-3CuSO4-P	40,063	36,572		
C1-4 CuSO4-P	24,265	20,628		
C1-5 CuSO4-P	21,528	27,826		
C2-1 CuSO4-P	29,024	23,550		
C2-2 CuSO4-P	24,494	41,861		
C2-3 CuSO4-P	23,019	22,670		
C2-3 CuSO4-P Dup	20,846	22,433	9,9	1,1
C2-4 CuSO4-P	23,211	21,250		
C2-5 CuSO4-P	40,894	17,563		
C3-1CuSO4-P	16,443	9,208		
C3-2 CuSO4-P	28,229	9,229		
C3-3 CuSO4-P	24,274	11,755		
C3-4 CuSO4-P	22,512	24,049		
C3-5 CuSO4-P	8,106	7,637		
C3-5 CuSO4-P Dup	8,453	7,509	-4,2	1,7
C4-1 CuSO4-P	15,361	7,807		
C4-1 CuSO4-P Dup	14,763	8,625	4,0	-10,0
C4-2 CuSO4-P	10,286	46,466		
C4-3 CuSO4-P	11,895	39,475		
C4-4 CuSO4-P	10,766	22,495		
C4-5 CuSO4-P	10,375	33,928		
C5-1 CuSO4-P	3,219	21,284		
C5-2 CuSO4-P	12,617	39,998		
C5-3 CuSO4-P	15,147	24,223		
C5-3 CuSO4-P Dup	15,409	23,361	-1,7	3,6
C5-4 CuSO4-P	9,001	19,238		
C5-5 CuSO4-P	12,256	12,470		
C6-1 CuSO4-P	18,648	9,820		
C6-2 CuSO4-P	10,049	4,912		
C6-3 CuSO4-P	12,460	20,025		
C7-1 CuSO4-P	8,023	21,438		
C7-2 CuSO4-P	25,637	13,941		
C7-2 CuSO4-P Dup	28,011	13,859	-8,8	0,6
LD, ug/g	0,210	1,068		

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

Tabla 12.- Concentraciones de Cu y Zn en choritos enviados por la UdeC

Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
Co-1 ZnSO4	0,213	13,569		
Co-1 ZnSO4 Dup	< LD	13,101		3,5
Co-2 ZnSO4	0,247	2,169		
Co-3 ZnSO4	< LD	8,137		
Co-4 ZnSO4	0,235	3,971		
Co-5 ZnSO4	0,224	3,343		
C1-1 ZnSO4	2,184	112,682		
C1-2 ZnSO4	2,365	105,585		
C1-3ZnSO4	2,097	169,199		
C1-3ZnSO4 Dup	2,016	183,263	4,0	-8,0
C1-4 ZnSO4	3,358	102,641		
C1-5 ZnSO4	2,030	91,089		
C2-1 ZnSO4	2,049	133,990		
C2-2 ZnSO4	1,804	123,080		
C2-3 ZnSO4	2,568	97,238		
C2-4 ZnSO4	1,417	127,885		
C2-5 ZnSO4	1,769	56,359		
C2-5 ZnSO4 Dup	1,658	60,293	6,5	-6,7
C3-1ZnSO4	1,019	86,033		
C3-1ZnSO4 Dup	1,129	95,296	-10,2	-10,2
C3-2 ZnSO4	1,584	84,390		
C3-3 ZnSO4	1,944	61,350		
C3-4 ZnSO4	1,824	42,267		
C3-5 ZnSO4	1,344	36,219		
C4-1 ZnSO4	3,920	85,263		
C4-2 ZnSO4	3,026	116,728		
C4-3 ZnSO4	1,837	118,755		
C4-3 ZnSO4 Dup	1,741	131,845	5,3	-10,4
C4-4 ZnSO4	1,554	41,246		
C4-5 ZnSO4	1,779	44,015		
C5-1 ZnSO4	1,385	77,929		
C5-2 ZnSO4	1,499	76,627		
C5-3 ZnSO4	3,847	125,485		
C5-4 ZnSO4	1,980	115,128		
C5-5 ZnSO4	2,209	87,632		
C5-5 ZnSO4 Dup	2,179	80,064	1,4	9,0
C6-1 ZnSO4	0,603	138,021		
C6-1 ZnSO4 Dup	0,661	142,695	-9,3	-3,3
C6-2 ZnSO4	1,093	73,434		
C6-3 ZnSO4	1,357	124,174		
C6-4 ZnSO4	2,619	112,832		
C6-5 ZnSO4	1,668	164,817		
C7-1 ZnSO4	0,182	127,517		
C7-2 ZnSO4	0,346	173,214		
C7-3 ZnSO4	0,360	106,947		
C7-3 ZnSO4 Dup	0,327	117,621	9,5	-9,5
C7-4 ZnSO4	0,540	214,478		
C7-5 ZnSO4	0,175	151,024		
C8-1 ZnSO4	0,000	110,076		
C8-2 ZnSO4	1,128	217,669		
C8-3 ZnSO4	0,361	194,506		
C8-4 ZnSO4	13,113	172,099		
C8-5 ZnSO4	-0,752	140,735		
C8-5 ZnSO4 Dup	0,192	145,033	337,0	-3,0
C9-1 ZnSO4	3,280	214,869		
C9-1 ZnSO4 Dup	3,638	205,033	-10,4	4,7
C9-2 ZnSO4	2,872	309,656		
C9-3 ZnSO4	2,846	236,419		
C9-4 ZnSO4	4,114	157,454		
C9-5 ZnSO4	3,076	240,641		
LD, ug/g	0,210	1,068		

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

Tabla 13.- Concentraciones de Cu y Zn en choritos

CHORITOS FUERA CONCESIÓN				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
MA1	0,597	2,941		
MA1 Dup	0,372	2,789	46,6	5,3
MA2	1,371	27,340		
MA3	0,786	12,146		
MA4	0,964	16,514		
MA5	0,834	11,370		
MA6	0,975	8,076		
MA7	1,033	18,835		
MA8	0,701	5,896		
MA9	0,541	< LD		
MA10	1,140	8,514		
MA11	0,598	9,212		
MA11 Dup	0,725	8,494	-19,1	8,1
MA12	0,786	11,122		
MA13	0,563	3,004		
MA14	0,766	16,194		
MA15	1,139	14,031		
LD, ug/g	0,148	2,040		

Tabla 14.- Concentraciones de Cu y Zn en choritos

CHORITOS DENTRO CONCESIÓN				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
MD1	0,208	10,221		
MD1 Dup	0,245	12,202	-16,1	-17,7
MD2	0,745	14,963		
MD3	0,299	3,928		
MD4	0,366	< LD		
MD5	0,158	11,774		
MD6	0,541	15,645		
MD7	0,643	12,687		
MD8	0,473	< LD		
MD9	0,576	5,637		
MD10	0,198	< LD		
MD11	1,125	9,366		
MD11 Dup	0,854	8,474	27,4	10,0
MD12	0,573	4,941		
MD13	1,153	6,926		
MD14	0,543	11,198		
MD15	0,222	8,780		
LD, ug/g	0,141	1,942		

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

Tabla 15.- Concentraciones de Cu y Zn en algas

ALGAS FUERA CONCESIÓN				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
AA1	< LD	< LD		
AA1 Dup	< LD	< LD		
AA2	< LD	< LD		
AA3	0,738	5,087		
AA4	1,110	3,652		
AA5	< LD	8,728		
AA6	< LD	3,630		
AA7	< LD	< LD		
AA8	< LD	3,073		
AA9	< LD	< LD		
AA10	< LD	2,224		
AA11	< LD	< LD		
AA11 Dup	< LD	< LD		
AA12	< LD	2,196		
AA13	< LD	< LD		
AA14	0,792	9,241		
AA15	< LD	7,177		
LD, ug/g	0,136	1,871		

Tabla 16.- Concentraciones de Cu y Zn en algas

ALGAS DENTRO CONCESIÓN				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
A1	0,345	4,198		
A1 Dup	0,492	3,947	-35,0	6,2
A2	0,295	-3,734		
A3	< LD	< LD		
A4	1,889	6,568		
A5	< LD	3,721		
A6	< LD	< LD		
A7	0,242	3,922		
A8	< LD	40,431		
A9	< LD	5,866		
A10	< LD	17,857		
A11	2,154	14,556		
A11 Dup	1,113	12,637	63,7	14,1
A12	< LD	10,636		
A13	0,491	11,965		
A14	< LD	< LD		
A15	< LD	< LD		
LD, ug/g	0,144	1,989		

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

Tabla 17.- Concentraciones de Cu y Zn en choritos provenientes de Udec

Mytilus chilensis grandes				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
1 control	< LD	11,466		
1 control Dup	< LD	12,281	NA	-6,9
2 control	< LD	3,674		
3 control	< LD	13,966		
4 control	< LD	8,376		
5 control	< LD	28,558		
1 Zn+Cu	2,393	24,149		
2 Zn+Cu	0,828	40,186		
3 Zn+Cu	5,495	54,542		
4 Zn+Cu	3,845	32,553		
5 Zn+Cu	5,322	46,107		
LD, ug/g	0,281	0,477		

Tabla 18.- Concentraciones de Cu y Zn en choritos provenientes de Udec

Mytilus chilensis chicos				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
C0-1 Zn+Cu	< LD	18,291		
C0-1 Zn+Cu Dup	< LD	16,654	NA	9,4
C0-2 Zn+Cu	< LD	30,161		
C0-3 Zn+Cu	< LD	23,235		
C0-4 Zn+Cu	< LD	40,516		
C0-5 Zn+Cu	< LD	58,929		
C2-1 Zn+Cu	20,320	55,641		
C2-2 Zn+Cu	9,375	63,001		
C2-3 Zn+Cu	1,991	37,855		
C2-4 Zn+Cu	14,547	45,043		
C2-5 Zn+Cu	9,124	41,583		
LD, ug/g	0,311	0,527		

Tabla 19.- Concentraciones de Cu y Zn en choritos provenientes de UdeC

Choritos-batch 1				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
C0-1	1,674	7,971		
C0-1 Dup	1,504	8,772	10,7	-9,6
C0-2	1,696	8,311		
C0-3	0,734	0,145		
C0-4	2,054	9,422		
C0-5	0,636	4,575		
C1-1	1,268	33,016		
C1-2	1,076	17,089		
C1-3	0,804	16,336		
C1-4	1,216	29,996		
C1-5	0,884	23,362		
C1-5 Dup	0,955	23,077	-7,7	1,2
C2-1	0,803	26,411		
C2-2	0,969	34,895		
C2-3	0,805	10,632		
C2-4	0,681	22,158		
C2-5	1,091	23,757		
C2-5 Dup	0,973	24,409	11,5	-2,7
LD, ug/g	0,070	0,099		

Tabla 19.- Continuación

Choritos-batch 2				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
C3-1	1,178	34,067		
C3-1 Dup	1,213	36,582	-3,0	-7,1
C3-2	1,048	96,801		
C3-3	0,795	40,059		
C3-4	1,642	58,432		
C3-5	0,912	36,438		
C4-1	1,008	39,285		
C4-2	2,114	107,652		
C4-3	1,203	81,737		
C4-4	1,510	57,944		
C4-5	1,639	158,449		
C4-5 Dup	1,781	178,120	-8,3	-11,7
C5-1	1,271	109,230		
C5-2	1,179	135,666		
C5-3	1,245	84,995		
C5-4	1,798	86,847		
C5-5	1,187	93,503		
C5-5 Dup	1,177	87,455	0,8	6,7
LD, ug/g	0,068	0,096		

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

Tabla 19.- Continuación

Choritos-batch 3				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
C6-1	1,249	117,514		
C6-1 Dup	1,346	129,357	-7,5	-9,6
C6-2	2,198	69,793		
C6-3	2,489	115,750		
C6-4	1,382	96,958		
C6-5	2,475	91,664		
C7-1	2,249	101,160		
C7-2	1,633	143,959		
C7-3	1,262	86,198		
C7-4	1,025	89,760		
C7-5	1,583	96,036		
C7-5 Dup	1,760	97,509	-10,6	-1,5
C8-1	1,318	109,377		
C8-2	0,980	108,884		
C8-3	2,141	138,467		
C8-4	3,334	162,563		
C8-5	1,480	125,434		
C8-5 Dup	1,637	120,695	-10,1	3,9
LD, ug/g	0,064	0,091		

5.3 Sedimentos

Tabla 20.- Concentraciones de Cu y Zn en sedimentos

Identificación original	Identificación extra en envase	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Recup -10 < X < 10	
				Cu, %	Zn, %
E1,1	08-09-2015	6,339	8,820		
E1,2	08-09-2015	7,714	9,756		
E1,2 Dup	08-09-2015	8,179	10,503	-5,9	-7,4
E2,1	08-09-2015	13,362	12,445		
E2,1 Dup	08-09-2015	12,148	11,316	9,5	9,5
E2,2	08-09-2015	8,412	12,147		
E2,3	08-09-2015	5,729	10,880		
E3,1	08-09-2015	9,739	9,721		
E4,1	08-09-2015	7,312	14,745		
E4,2	08-09-2015	8,885	7,488		
E4,3	08-09-2015	5,810	6,645		
E5,1	08-09-2015	4,471	7,991		
E5,2	15-09-2015	5,270	10,606		
E5,3	15-09-2015	6,873	4,488		
E6,1	15-09-2015	7,270	13,667		
E6,2	15-09-2015	5,667	11,507		
E6,3	15-09-2015	5,904	12,694		
E7,1	15-09-2015	4,469	4,665		
E7,1Dup	15-09-2015	4,631	4,940	-3,6	-5,7
E7,2	15-09-2015	4,825	8,326		
E7,3	15-09-2015	4,815	19,148		
E8,1	15-09-2015	4,837	5,191		
E8,2	15-09-2015	5,233	16,017		
E8,3	15-09-2015	4,945	8,362		
E9,1	15-09-2015	5,832	8,557		
E9,2	15-09-2015	6,705	13,313		
E9,3	15-09-2015	6,180	12,011		
E9,3 Dup	15-09-2015	6,054	11,329	2,1	5,8
E10,1	15-09-2015	5,394	11,172		
E10,1Dup	15-09-2015	5,645	12,261	-4,5	-9,3
E10,2	15-09-2015	5,891	11,484		
E10,3	15-09-2015	6,882	5,603		
E11,1	15-09-2015	7,911	9,915		
E12,1	15-09-2015	5,993	11,264		
E13,1	15-09-2015	5,203	8,737		
E13,2	15-09-2015	6,668	14,492		
E14,1	15-09-2015	6,733	7,132		
E14,2	15-09-2015	5,111	10,059		
E14,3	15-09-2015	5,849	11,562		
E15,1	15-09-2015	4,556	6,366		
E15,2	16-09-2015	4,075	13,795		
E15,2 Dup	15-09-2015	3,729	14,919	8,9	-7,8
E15,3	15-09-2015	4,716	7,769		
E16,1	15-09-2015	3,768	9,735		
E16,2	15-09-2015	7,835	10,251		
E16,3	15-09-2015	3,319	5,813		
LD, ug/g		0,098	0,487		

DICTUC es una filial de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Vicuña Mackenna 4860, Macul, Santiago – Chile / Fono: (56-2) 2354 5892 / Fax: (56-2) 2354 5805 / www.dictuc.cl

Tabla 21.- Concentraciones de Cu y Zn en sedimentos

SEDIMENTOS				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, ug/g	Zn, ug/g	Cu, %	Zn, %
1.1	4,820	11,818		
1.1 Dup	4,537	12,627	6,0	-6,6
1.2	4,781	14,577		
1.3	4,156	6,237		
1.3 Dup	4,059	6,289	2,4	-0,8
2.1	7,615	27,765		
2.2	14,603	20,927		
2.2 Dup	14,955	20,391	-2,4	2,6
2.3	7,080	18,582		
3.1	6,797	17,708		
3.2	9,147	10,252		
3.3	6,482	9,882		
4.1	3,458	18,576		
4.2	3,724	18,821		
4.3	3,615	22,531		
5.1	3,634	21,016		
5.2	4,225	23,092		
5.3	3,649	17,427		
5.3 Dup	2,936	15,545	21,7	11,4
6.1	3,153	27,302		
6.2	3,393	19,532		
6.3	3,487	15,568		
7.1	3,603	24,883		
7.2	8,105	17,745		
7.3	9,490	20,837		
8.1	9,983	21,294		
8.2	3,999	7,457		
8.3	8,925	24,072		
9.1	8,620	24,067		
9.2	9,362	27,155		
9.3	9,586	21,495		
10.1	7,872	22,432		
10.2	3,174	5,341		
10.3	8,476	31,820		
11.1	10,822	19,211		
12.1	4,072	8,756		
12.2	2,927	9,615		
12.3	3,164	10,073		
13.1	4,285	13,449		
13.2	13,374	51,309		
14.1	2,848	8,651		
14.2	25,377	7,569		
14.3	3,699	6,516		
14.3 Dup	3,164	6,975	15,6	-6,8
15.1	3,180	10,164		
15.2	3,192	10,020		
15.3	3,192	8,737		
16.1	1,739	6,926		
16.2	1,586	22,730		
16.3	4,556	22,612		
LD, ug/g	0,153	2,105		

5.4 Mallas

Tabla 22.- Concentraciones de Cu y Zn en mallas

Identificación original	Cu, %	Zn, %	Recup -10 < X < 10	
			Cu, %	Zn, %
1P	2,421	0,022		
2P	1,303	< LD		
3P	2,560	0,023		
3P Duplicado	2,805	0,020	-9,1	9,8
4P	1,236	< LD		
5P	1,220	< LD		
1L	2,326	0,083		
1L Duplicado	2,331	0,077	-0,2	7,6
2L	1,408	0,018		
3L	1,376	0,024		
4L	1,899	0,043		
4L Duplicado	1,751	0,045	8,1	-4,1
5L	2,061	0,090		
LD, %	0,152	0,004		

Tabla 23.- Concentraciones de Cu y Zn en mallas

Mallas				
Código Muestra	Concentración		Recup -10 < X < 10	
	Cu, %	Zn, %	Cu, %	Zn, %
Lobos Jaula 1	0,402	0,0010		
Lobos Jaula 1 Dup	0,406	0,0013	-0,9	-26,9
Jaula 5-7	0,623	0,0017		
Jaula 5-7 dup	0,641	0,0015	-2,8	13,9
Jaula 6-8	1,336	0,0005		
Jaula 6-8 dup	1,475	0,0005	-9,9	1,0
70651	1,449	0,0005		
70652	1,294	0,0005		
LD, %	0,004	0,0007		



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2268

Fecha: 24 de febrero de 2016

SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Toxicidad Crónica
ESPECIE	: <i>Mytilus chilensis</i> (chorito del sur adultos)
RESPUESTA MEDIDA	: Adherencia al sustrato
FECHA INICIO BIOENSAYO	: 17 de diciembre de 2015
TIEMPO DE EXPOSICION	: 7 días
COMPUESTO EVALUADO	: Sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) (Sigma-Aldrich)



CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO



UNIDAD EXPERIMENTAL	: Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP.	: 3 L
NUMERO REPLICAS	: 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP.	: 5
TAMAÑO ADULTOS	: 4,5 – 6 cm de largo
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 8 (Control y 7 concentraciones de CuSO_4)
MEDIO DE DILUCION	: Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD	: 34 ‰
OXIGENO DISUELTO	: Saturado por aireación continua
pH	: 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO	: 14 ± 1 °C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

Se decidió cambiar el óxido cuproso por sulfato de cobre, ya que el primero tiene una baja solubilidad en agua de mar, quedando gran parte de este compuesto insoluble, por lo tanto no biodisponible. 0,24 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) se solubilizó mediante agitador magnético durante una hora en 500 mL de agua de mar tibia y luego se incorporó al volumen total preparado (24 L). El gradiente de concentraciones se preparó con un factor de dilución de 0,5.

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).

Se distribuyeron 5 adultos de chorito (4,5 a 6 cm de largo) por unidad experimental de 3 L de solución con 4 réplicas por tratamiento. Los envases se mantuvieron con aireación continua en una cámara con temperatura controlada a 14 °C, con recambio del medio cada 48 h. En cada recambio se lavó el envase y se retiraron los bivalvos muertos. El efecto



crónico se determinó contabilizando, al término del período de exposición (7 días), el número de organismos adheridos a las paredes del envase o entre ellos y los carentes de fibras de adherencia (biso), sueltos en el recipiente.

RESULTADOS:



El resultado del bioensayo crónico con *Mytilus chilensis* adultos expuestos a una serie de concentraciones de CuSO₄ en agua de mar se presenta en la tabla 1.

Tabla 1: Número de ejemplares del bivalvo *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ión Cu²⁺ [] disuelto a partir de CuSO₄.



Conc. CuSO ₄ x 5 H ₂ O (mg/L)	Cu ⁺⁺ (mg/L) (nominal) [disuelto]	N° de adheridos del N° total de expuestos sobrevivientes					Total (%)
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D		
Control agua de mar	0 [0,0036]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100)	
0,15	(0,038) [0,0112]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100)	
0,3	(0,079) [0,0188]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100)	
0,6	(0,159) [0,0348]	4 de 4	1 de 2	2 de 5	4 de 5	11 de 16 (68,7)	
1,25	(0,318) [0,2842]	0 de 1	0 de 1	0 de 1	0 de 1	0 de 4 (0)	
2,5	(0,636) [0,5107]	0 de 1	0 de 0	0 de 2	0 de 0	0 de 3 (0)	
5	(1,272) [0,7602]	0 de 0	0 de 1	0 de 0	0 de 1	0 de 2 (0)	
10	(2,545) [1,4237]	0 de 1	0 de 0	0 de 0	0 de 0	0 de 1 (0)	

La adherencia de los choritos mediante las fibras del biso fue normal en el agua control con un 100 % de adherencia. La adherencia en los choritos sobrevivientes al concluir los 7 días de exposición es notoriamente afectada por la creciente concentración de cobre disuelto en el agua de mar. Los datos de adherencia de los choritos al sustrato o entre sí en relación a la concentración de cobre en el agua fueron analizados estadísticamente



mediante el test Dunnett del paquete estadístico Toxstat, obteniéndose valores para NOEC * de 0,079 mg/L y para LOEC \odot de 0,159 mg/L de Cu^{2+} nominal (Anexo 1).

* NOEC =

es la mayor concentración de CuSO_4 en la cual la adherencia de los choritos es estadísticamente igual a la del grupo control.

\odot LOEC= es la menor concentración de CuSO_4 en la cual hay diferencias estadísticamente significativas en la adherencia de los choritos respecto al grupo control.



La adherencia de los choritos cambió drásticamente de un 100 % a 0 % de adheridos al pasar de una solución de Cu^{2+} nominal de 0,079 a 0,318 mg/L. La concentración de Cu^{2+} acumulado en los choritos en ese rango de exposición a ión cobre disuelto varió de 7 a 10,9 $\mu\text{g/g}$. Un incremento de cuatro veces la concentración inicial en el agua no implica un aumento proporcional del cobre en la carne de los choritos pero sí un cambio radical en su comportamiento.

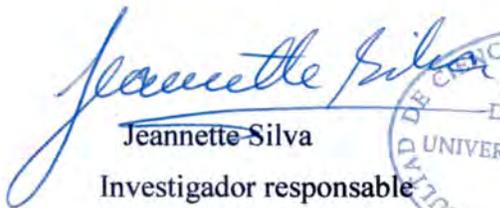


CONCLUSIÓN:

- Los valores de NOEC y LOEC calculados con las concentraciones nominales de Cu^{2+} en exposición de 7 días son:

$$\text{NOEC} = 0,079 \text{ mg/L}, \text{ LOEC} = 0,159 \text{ mg/L}$$

- NOEC y LOEC de choritos adultos es coincidente con estos índices en choritos juveniles.
- Los cambios en la adherencia al sustrato que se manifiestan por incremento de la concentración de Cu^{2+} en el agua no se relacionan proporcionalmente con la variación de la concentración de cobre en la carne del chorito.


Jeannette Silva
Investigador responsable




Dr. Enrique Bay-Schmith B.
Director



Anexo 1: Análisis estadístico de los datos de fijación de *Mytilus chilensis* expuesto a Cu²⁺.
 Cálculo de NOEC y LOEC.

cronico *Mytilus chilensis* adultos / Cu⁺⁺
 File: grcu Transform: LOG BASE 10(Y)



ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	7	100.541	14.363	607.091
Within (Error)	24	0.568	0.024	
Total	31	101.108		



Critical F value = 2.42 (0.05,7,24)
 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	0.695	5.000		
2	0.038	0.695	5.000	0.000	
3	0.079	0.695	5.000	0.000	
4	0.159	0.376	2.750	2.926	*
5	0.318	-2.925	0.001	33.277	*
6	0.636	-2.925	0.001	33.277	*
7	1.272	-2.925	0.001	33.277	*
8	2.545	-2.925	0.001	33.277	*

Dunnett table value = 2.48 (1 Tailed Value, P=0.05, df=24,7)



Anexo 2. Medidas de talla y peso de 5 individuos muestreados por tratamiento y datos de la concentración analítica de cobre en el agua y en los choritos.



Concentración analítica de Cu ²⁺ en agua (µg/L)	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)	Concentración analítica de Cu ²⁺ en carne (µg/g)
3,6	Co-1	6,5	6,3	0,762
	Co-2	5,91	5,4	0,957
	Co-3	5,51	6,2	1,753
	Co-4	5,8	4,5	1,662
	Co-5	5,72	4,3	1,208
				Promedio: 1,268
11,2	C1-1	5,67	6,4	9,962
	C1-2	5,02	3,3	3,804
	C1-3	5,34	3,6	6,357
	C1-4	5,41	3,4	5,68
	C1-5	5,80	5,5	6,442
				Promedio: 6,449
18,8	C2-1	5,99	5,7	2,368
	C2-2	6,15	7,3	4,544
	C2-3	5,54	5,4	17,089
	C2-4	5,81	5,1	5,539
	C2-5	6,0	5,6	5,598
				Promedio: 7,028
34,8	C3-1	5,32	4,5	9,098
	C3-2	5,66	5,3	13,638
	C3-3	5,66	5,3	17,484
	C3-4	5,59	4,4	15,602
	C3-5	4,94	2,8	3,5
				Promedio: 11,864



284,2	C4-1	6,22	5,6	7,925
	C4-2	6,10	5,2	11,332
	C4-3	5,23	4,4	14,353
	C4-4	5,26	3,7	14,852
	C4-5	5,10	3,8	6,41
				Promedio: 10,974
510,7	C5-1	5,65	5,9	22,513
	C5-2	5,0	3,1	5,592
	C5-3	4,4	2,9	5,945
	C5-4	5,32	4,1	6,639
	C5-5	5,80	5,1	23,51
				Promedio: 12,840
760,2	C6-1	6,5	5,7 (m)	6,904
	C6-2	5,5	4,2	44,599
	C6-3	5,47	3,1	28,165
	C6-4	5,38	4,6	15,666
	C6-5	5,24	3,3 (m)	12,908
				Promedio: 21,648
1.423,7	C7-1	5,30	4,7 (m)	25,744
	C7-2	5,84	5,0 (m)	35,872
	C7-3	5,56	4,2 (m)	43,281
	C7-4	5,52	3,7 (m)	43,417
	C7-5	6,26	4,0 (m)	44,288
				Promedio: 38,520



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2365

Fecha: 24 de febrero de 2016



SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Toxicidad Crónica
ESPECIE	: <i>Mytilus chilensis</i> (chorito del sur, adultos)
RESPUESTA MEDIDA	: Adherencia al sustrato
FECHA INICIO BIOENSAYO	: 1 de febrero de 2016
TIEMPO DE EXPOSICION	: 7 días
COMPUESTO EVALUADO	: ZnSO ₄ x 7 H ₂ O (Sigma-Aldrich)

CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO



UNIDAD EXPERIMENTAL	: Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP.	: 3 L
NUMERO REPLICAS	: 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP.	: 5
TAMAÑO ADULTOS	: 4,5 – 6 cm de largo
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 9 (Control y 8 concentraciones de ZnSO ₄)
MEDIO DE DILUCION	: Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD	: 34 ‰
OXIGENO DISUELTO	: Saturado por aireación continua
pH	: 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO	: 14 ± 1 °C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).

La solución de mayor concentración de sulfato de zinc se preparó por disolución de 7,2 g ZnSO₄ x 7 H₂O en 500 mL de agua de mar tibia mediante agitador magnético durante una hora y luego se incorporó al volumen total de agua de mar (24 L). El gradiente de concentraciones se preparó con un factor de dilución de 0,5.

Se distribuyeron 5 adultos de chorito (4,5 a 6 cm de largo) por unidad experimental de 3 L de solución con 4 réplicas por tratamiento. Los envases se mantuvieron con aireación continua en una cámara con temperatura controlada a 14 °C, con recambio del medio cada 48 h. En cada recambio se lavó el envase y se retiraron los bivalvos muertos. El efecto crónico se determinó contabilizando, al término del período de exposición (7 días), el



número de organismos adheridos a las paredes del envase o entre ellos y los carentes de fibras de adherencia (biso), sueltos en el recipiente.

RESULTADOS:



El resultado del bioensayo crónico con adultos de *Mytilus chilensis* expuesto a una serie de concentraciones de ZnSO₄ en agua de mar se presenta en la tabla 1.

La adherencia de los choritos mediante las fibras del biso fue normal en el agua control con un 100 % de ejemplares adheridos. La adherencia en los choritos sobrevivientes al concluir los 7 días de exposición fue afectada considerablemente con el incremento de la concentración de zinc disuelto en el agua de mar. Los datos de adherencia de los choritos al sustrato o entre sí fueron analizados estadísticamente mediante el test Dunnett del paquete estadístico Toxstat, obteniéndose valores para Zn²⁺ de un NOEC * de 1,06 mg/L y un LOEC ⊙ de 2,13 mg/L (Anexo 1).



* NOEC = es la mayor concentración de CuSO₄ en la cual la adherencia de los choritos es estadísticamente igual a la del grupo control.

⊙ LOEC= es la menor concentración de CuSO₄ en la cual hay diferencias estadísticamente significativas en la adherencia de los choritos respecto al grupo control.

Tabla 1: Número de ejemplares adultos del bivalvo *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales del ión Zn²⁺. Número inicial: 20 por réplica.

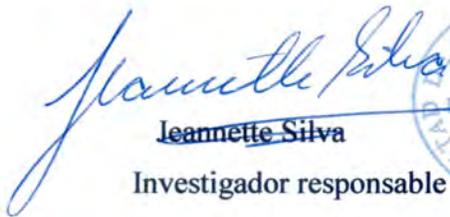
ZnSO ₄ ·7 H ₂ O (mg/L)	Zn ⁺⁺ (mg/L) (nominal)	Nº de adheridos del Nº total de sobrevivientes expuestos				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	(0) [0,0064]	4 de 4	5 de 5	5 de 5	5 de 5	19 de 19 (100)
2,34	(0,53) [0,0159]	5 de 5	5 de 5	4 de 4	5 de 5	19 de 19 (100)
4,68	(1,06) [0,0229]	5 de 5	5 de 5	4 de 4	5 de 5	19 de 19 (100)
9,37	(2,13) [0,0375]	4 de 4	1 de 4	2 de 5	3 de 5	10 de 18 (55,5)



18,75	(4,26) [0,2992]	0 de 2	0 de 2	0 de 2	0 de 4	0 de 10 (0)
37,5	(8,53) [0,5993]	0 de 2	0 de 2	0 de 2	0 de 3	0 de 9 (0)
75	(17,06) [1,2517]	0 de 1	0 de 2	0 de 2	0 de 3	0 de 8 (0)
150	(34,13) [4,8787]	0 de 3	0 de 3	0 de 1	0 de 2	0 de 9 (0)
300	(68,26) [4,6867]	0 de 1	0 de 2	0 de 3	0 de 2	0 de 8 (0)

CONCLUSIÓN:

- Los valores de NOEC y LOEC calculados con las concentraciones nominales del ión Zn^{2+} y su efecto sobre la adherencia al sustrato del chorito adulto son: NOEC = 1,06 mg/L y LOEC = 2,13 mg/L.
- Los valores NOEC y LOEC expresados en función del ión Zn^{2+} medido analíticamente en las soluciones son: NOEC = 0,0229 mg/L y LOEC = 0,0375 mg/L.
- La concentración promedio (\pm DE) de Z^{2+} en la carne de los choritos expuestos al NOEC de la adherencia es 23,57 (\pm 8,74) μ g/g.


 Jeannette Silva
 Investigador responsable




 Dr. Enrique Bay-Schmith B.
 Director



Anexo 1: Análisis estadístico de los datos de fijación de *Mytilus chilensis* expuesto a Zn²⁺.
Cálculo de NOEC y LOEC.

cronico *Mytilus chilensis* grandes/Zinc
File: Grzinc Transform: LOG BASE 10(Y)



ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	64.905	12.981	608.156
Within (Error)	18	0.384	0.021	
Total	23	65.289		



Critical F value = 2.77 (0.05,5,18)
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	0.675	4.750		
2	0.53	0.675	4.750	0.000	
3	1.06	0.675	4.750	0.000	
4	2.13	0.345	2.500	3.191	*
5	4.26	-2.925	0.001	34.842	*
6	8.53	-2.849	0.002	34.114	*

Dunnett table value = 2.41 (1 Tailed Value, P=0.05, df=18,5)

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	4			
2	0.53	4	2.063	43.4	0.000
3	1.06	4	2.063	43.4	0.000
4	2.13	4	2.063	43.4	2.250
5	4.26	4	2.063	43.4	4.749
6	8.53	4	2.063	43.4	4.748



Anexo 2: Datos de talla y peso de 5 individuos por tratamiento del bioensayo de adultos de *Mytilus chilensis* expuesto a Zn^{2+} .



Concentración analítica de Zn^{2+} en agua (mg/L)	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)	Concentración Zn^{2+} analítica en la carne ($\mu\text{g/g}$)
0,006	Co-1	4,9	3,5	7,971
	Co-2	5,21	3,8	8,311
	Co-3	5,24	4,8	0,145
	Co-4	5,05	3,7	9,422
	Co-5	4,94	4,4	4,575
				Promedio: 6,085
0,016	C1-1	4,92	3,1	33,016
	C1-2	4,92	4,1	17,089
	C1-3	5,0	4,7	16,336
	C1-4	5,06	4,2	29,996
	C1-5	4,94	3,0	23,362
				Promedio: 23,96
0,023	C2-1	5,13	4,3	26,411
	C2-2	5,66	5,6	34,895
	C2-3	5,34	5,1	10,632
	C2-4	5,46	5,6	22,158
	C2-5	5,18	4,1	23,757
				Promedio: 23,571
0,037	C3-1	5,09	3,7	34,067
	C3-2	5,36	4,6	96,801
	C3-3	5,77	5,2	40,059
	C3-4	5,36	4,1	58,432
	C3-5	5,08	4,1	36,438
				Promedio: 53,159



0,299	C4-1	4,61	2,8	39,285
	C4-2	4,83	3,1	107,652
	C4-3	5,03	3,8	81,737
	C4-4	5,56	4,0	57,944
	C4-5	4,87	3,2	158,449
				Promedio: 89,013
0,599	C5-1	4,33	3,1	109,230
	C5-2	5,0	2,5	135,666
	C5-3	4,84	3,5	84,995
	C5-4	5,16	4,2	86,847
	C5-5	4,80	2,8	93,503
				Promedio: 102,048
1,252	C6-1	5,30	3,6	117,514
	C6-2	5,14	3,7	69,793
	C6-3	5,11	3,5	115,570
	C6-4	5,35	4,3	96,958
	C6-5	4,65	2,8	91,664
				Promedio: 98,3
4,879	C7-1	5,13	4,0	101,160
	C7-2	4,90	3,3	143,959
	C7-3	5,22	3,6	86,198
	C7-4	5,18	4,0	89,760
	C7-5	4,57	2,8	96,036
				Promedio: 103,423
~7,719	C8-1	5,32	4,2	109,377
	C8-2	4,55	3,3	108,884
	C8-3	4,75	3,2	138,467
	C8-4	4,74	3,0	162,563
	C8-5	4,80	3,0	125,434
				Promedio: 128,945



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2363

Fecha: 24 de febrero 2016



SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Toxicidad Crónica
ESPECIE	: <i>Mytilus chilensis</i> (chorito del sur juveniles)
RESPUESTA MEDIDA	: Adherencia al sustrato
FECHA INICIO BIOENSAYO	: 29 de diciembre de 2015
TIEMPO DE EXPOSICION	: 7 días
COMPUESTO EVALUADO	: Sulfato de cobre (Sigma-Aldrich)

CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO



UNIDAD EXPERIMENTAL	: Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP.	: 3 L
NUMERO REPLICAS	: 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP.	: 5
TAMAÑO JUVENILES	: 2,5 – 3,8 cm
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 8 (Control y 7 concentraciones de CuSO ₄)
MEDIO DE DILUCION	: Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD	: 34 ‰
OXIGENO DISUELTO	: Saturado por aireación continua
pH	: 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO	: 14 ± 1 °C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).

Se solubilizó 24 g de sulfato de cobre (CuSO₄.5 H₂O) en 500 mL de agua de mar tibia y luego se incorporó al volumen total preparado (24 L). El gradiente de concentraciones se preparó con un factor de dilución de 0,5.

Se distribuyeron 5 juveniles de chorito (2,5 – 3,8 cm de largo) por unidad experimental de 3 L de solución con 4 réplicas por tratamiento. Los envases se mantuvieron con aireación continua en una cámara con temperatura controlada a 14 °C, con recambio del medio cada 48 h. En cada recambio se lavó el envase y se retiraron los bivalvos muertos. El efecto crónico se determinó contabilizando, al término del período de exposición (7 días), el número de organismos adheridos a las paredes del envase o entre ellos y los carentes de fibras de adherencia (biso), sueltos en el recipiente.



RESULTADOS:

El resultado del bioensayo crónico con *Mytilus chilensis* expuesto a una serie de concentraciones de CuSO_4 en agua de mar se presenta en la tabla 1.



La adherencia de los choritos mediante las fibras del biso fue normal en al agua control con un 100 % de adherencia. La adherencia en los choritos sobrevivientes al concluir los 7 días de exposición es notoriamente afectada por la creciente concentración de cobre disuelto en el agua de mar. Los datos de adherencia de los choritos al sustrato o entre sí fueron analizados estadísticamente mediante el test Dunnett del paquete estadístico Toxstat, obteniéndose valores para NOEC * de 0,079 mg/L y para LOEC \odot de 0,159 mg/L (Anexo 1), valores coincidentes con la respuesta de los choritos adultos expuestos al ión cobre.

* NOEC = es la mayor concentración de CuSO_4 en la cual la adherencia de los choritos es estadísticamente igual a la del grupo control.



\odot LOEC= es la menor concentración de CuSO_4 en la cual hay diferencias estadísticamente significativas en la adherencia de los choritos respecto al grupo control.

Tabla 1: Número de ejemplares sobrevivientes del bivalvo *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ión Cu^{2+} [] disuelto a partir de CuSO_4 .

Concentración $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ (mg/L)	Cu^{++} (mg/L) (nominal) [disuelto]	Nº de adheridos del Nº total de sobrevivientes				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	0 [0,0036]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100)
0,15	(0,038) [0,0112]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100)
0,3	(0,079) [0,0188]	5 de 5	5 de 5	4 de 4	4 de 4	18 de 18 (100)
0,6	(0,159) [0,0348]	4 de 5	3 de 4	3 de 4	3 de 4	13 de 17 (76,5)
1,25	(0,318) [0,2842]	0 de 3	0 de 3	0 de 2	0 de 2	0 de 10 (0)
2,5	(0,636) [0,5107]	0 de 2	0 de 2	0 de 2	0 de 3	0 de 9 (0)
5,0	(1,272) [0,7602]	0 de 0	0 de 0	0 de 1	0 de 1	0 de 2 (0)
10	(2,545) [1,4237]	0 de 1	0 de 0	0 de 0	0 de 0	0 de 1 (0)



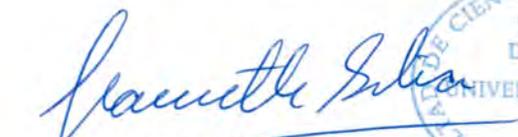
La talla y peso de 5 individuos muestreados por tratamiento se presenta en el anexo 2. Las concentraciones bajas de cobre en el agua se traducen en altas concentraciones en el tejido blando de los choritos. A medida que aumenta la concentración en el agua el ión absorbido va disminuyendo. A partir de 510 mg/L la tendencia se revierte y los choritos acumulan mayor cantidad de cobre con el aumento de la concentración en el agua. Este comportamiento podría ser consecuencia de la capacidad de los bivalvos de cerrarse herméticamente por cierto tiempo cuando enfrentan un ambiente alterado. Las concentraciones más bajas de cobre es posible que no la detecten y lo bioacumulan en función de la tasa de intercambio de agua.



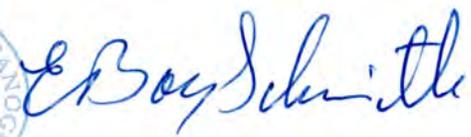
CONCLUSIÓN:



- Los valores NOEC y LOEC del ión cobre sobre juveniles de *M. chilensis* calculados con las concentraciones nominales de las soluciones son NOEC = 0,079 mg/L y LOEC = 0,159 mg/L.
- Los valores NOEC y LOEC expresados en función del ión Cu^{2+} medido analíticamente en las soluciones son: NOEC = 0,019 mg/L y LOEC = 0,035 mg/L.
- La inhibición de la adherencia de los choritos al sustrato responde al incremento de la concentración de Cu^{2+} en el agua.
- El nivel de Cu^{2+} bioacumulado en los choritos no explica la alteración de la adherencia mediante las fibras del biso.
- La acumulación de Cu^{2+} en la carne de los choritos expuestos al NOEC de Cu^{2+} (0,019 mg/L) es en promedio 28,1 $\mu\text{g/g}$.


Jeannette Silva
Investigador responsable




Dr. Enrique Bay-Schmith B.
Director



Anexo 1: Análisis estadístico de los datos de fijación de *Mytilus chilensis* juveniles expuesto a CuSO₄. Cálculo de NOEC y LOEC.

cronico *Mytilus chilensis* juveniles/Cu
 File: chicocu Transform: LOG BASE 10(Y)



ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	4	40.688	10.172	1269.095
Within (Error)	15	0.120	0.008	
Total	19	40.809		



Critical F value = 3.06 (0.05,4,15)
 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	0.695	5.000		
2 0.038	0.695	5.000	0.000	
3 0.079	0.651	4.500	0.695	
4 0.159	0.508	3.250	2.941	*
5 0.318	-2.925	0.001	57.171	*

Dunnett table value = 2.36 (1 Tailed Value, P=0.05, df=15,4)

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	4			
2 0.038	4	1.441	28.8	0.000
3 0.079	4	1.441	28.8	0.500
4 0.159	4	1.441	28.8	1.750
5 0.318	4	1.441	28.8	4.999



Anexo 2: Valores de talla, peso fresco sin concha y concentración de cobre de 5 individuos juveniles de *Mytilus chilensis* muestreados por tratamiento. Promedios sin excluir concentraciones anómalas (muy inferiores).



Concentración analítica de Cu ²⁺ en agua (µg/L)	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)	Concentración analítica de Cu ²⁺ en carne (µg/g)
3,6	Co-1	2,61 – 2,72	0,6 – 0,6	1,391
	Co-2	2,91 – 3,09	0,8 – 1,3	1,6
	Co-3	2,8 – 3,05	0,6 – 0,3	1,235
	Co-4	3,49 – 3,26	0,9 – 1,0	2,892
	Co-5	2,56 – 2,67	0,3 – 0,6	1,352
				Promedio: 1,694
11,2	C1-1	2,95 – 3,41	0,4 -0,7	25,838
	C1-2	3,16 – 3,12	0,6 – 0,4	42,682
	C1-3	3,30 – 3,11	0,5- 0,2	40,063
	C1-4	3,22 – 2,93	0,6 – 0,8	24,265
	C1-5	3,11 – 3,26	0,9 - 1	21,528
				Promedio: 30,875
18,8	C2-1	3,42	1,2	29,024
	C2-2	3,69	1,6	24,494
	C2-3	3,18	1,2	23,019
	C2-4	3,05	1,1	23,211
	C2-5	3,27	1,1	40,894
				Promedio: 28,128
34,8	C3-1	3,19	1,1	16,443
	C3-2	3,55	1,2	28,229
	C3-3	3,22	1,1	24,274
	C3-4	3,32	1,2	22,512
	C3-5	3,14	1,1	8,106
				Promedio: 19,913



284,2	C4-1	3,21	1,1	15,361
	C4-2	3,08 – 2,97	1,0 – 1,0	10,286
	C4-3	3,28	1,5	11,895
	C4-4	3,01	1	10,766
	C4-5	2,90 – 2,55	0,7 – 0,4	10,375
				Promedio: 11,737
760,2	C6-1	3,46	1,4	18,648
	C6-2	3,84	2	10,049
	C6-3	3,0 – 2,79	0,8 – 0,7	12,460
				Promedio: 13,719
1.423,7	C7-1	3,24	1,4	8,023
	C7-2	2,93	0,7	25,637
	C7-2 dup			28,011
				Promedio: 26,824

LD: 0,21 µg/g



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2389

Fecha: 15 de marzo de 2016

SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Toxicidad Crónica
ESPECIE	: <i>Mytilus chilensis</i> (chorito del sur, adultos y juveniles)
RESPUESTA MEDIDA	: Adherencia al sustrato
FECHA INICIO BIOENSAYO	: 4 de marzo de 2016
TIEMPO DE EXPOSICION	: 7 días
COMPUESTO EVALUADO	: Sulfato de zinc ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$) + Sulfato de cobre ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$)



CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO

UNIDAD EXPERIMENTAL	: Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP.	: 3 L
NUMERO REPLICAS	: 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP.	: 5
TAMAÑO DE ADULTOS:	: 4,5 – 6 cm de largo
TAMAÑO DE JUVENILES	: 2,5 – 3,8 cm de largo
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 2 (Control y concentración NOEC de ambos compuestos)
MEDIO DE DILUCION	: Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD	: 34 ‰
OXIGENO DISUELTO	: Saturado por aireación continua
pH	: 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO	: 14 ± 1 °C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).

Se preparó una solución con ambos compuestos en una proporción 1:1 de las concentraciones correspondientes a los NOEC obtenidos de los bioensayos crónicos realizados anteriormente con cada una de las sales evaluadas. Las concentraciones preparadas fueron 5 mg/L para $ZnSO_4$ + 0,3 mg/L para $CuSO_4$, las cuales fueron disueltas



previamente en 500 mL de agua de mar tibia mediante agitador magnético durante una hora, incorporándose luego al volumen total de agua de mar (24 L).

Se prepararon 8 set de unidades experimentales: Zn + Cu combinado con choritos adultos, Zn + Cu combinado para choritos juveniles, Zn (NOEC) con adultos y otro con juveniles, Cu (NOEC) con adultos y otro con juveniles y control adulto y control juvenil. Se distribuyeron 5 choritos por unidad experimental de 3 L de solución con 4 réplicas por tratamiento. Los envases se mantuvieron con aireación continua en una cámara con temperatura controlada a 14 °C, con recambio del medio cada 48 h. En cada recambio se lavó el envase y se retiraron los bivalvos muertos. El efecto crónico se determinó contabilizando, al término del período de exposición (7 días), el número de organismos adheridos a las paredes del envase o entre ellos y los carentes de fibras de adherencia (biso), sueltos en el recipiente. La comparación de los datos de adherencia de los choritos adultos y juveniles al sustrato fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA seguido del test TUKEY del paquete estadístico Toxstat (Anexo 1).



RESULTADOS:

El resultado del bioensayo crónico con adultos y juveniles de *Mytilus chilensis* expuestos a la combinación de ZnSO₄ + CuSO₄ en agua de mar a las respectivas concentraciones NOEC y de choritos expuestos a los metales individualmente a su concentración NOEC se presenta en la tabla 1 para adultos y en la tabla 2 para juveniles.

Tabla 1: Número de ejemplares adultos del bivalvo *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos simultáneamente por 7 días a concentraciones nominales NOEC de Zn²⁺ y Cu²⁺ y a concentración NOEC individual de Zn²⁺ y concentración NOEC individual de Cu²⁺.

Concentración equivalente al NOEC de la sal completa (mg/L)	NOEC ión (mg/L)	Nº de adheridos del Nº total de sobrevivientes				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	--	5 de 5 (100 %)	4 de 4 (100 %)	5 de 5 (100 %)	4 de 4 (80 %)	18 de 18 (100 %)
5 (ZnSO ₄)	(1,13) Zn ²⁺	1 de 1 (100 %)	0 de 2 (0 %)	0 de 1 (0 %)	0 de 2 (0 %)	1 de 6 (16,7 %)
0,3 (CuSO ₄)	(0,079) Cu ²⁺					
5 (ZnSO ₄)	(1,13) Zn ²⁺	2 de 4 (50 %)	3 de 4 (75 %)	2 de 2 (100 %)	2 de 3 (66,7 %)	9 de 13 (69 %)
0,3 (CuSO ₄)	(0,079) Cu ²⁺	4 de 5 (80 %)	3 de 5 (60 %)	5 de 5 (100 %)	3 de 5 (60 %)	15 de 20 (75 %)



Tabla 2: Número de ejemplares juveniles del bivalvo *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos simultáneamente por 7 días a concentraciones nominales NOEC de Zn^{2+} y Cu^{2+} y a concentración NOEC individual de Zn^{2+} y concentración NOEC individual de Cu^{2+} .



Concentración equivalente al NOEC de la sal completa (mg/L)	NOEC ión (mg/L)	N° de adheridos del N° total de sobrevivientes				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	--	5 de 5 (100 %)	5 de 5 (100 %)	5 de 5 (100 %)	5 de 5 (100 %)	20 de 20 (100 %)
5 ($ZnSO_4$)	(1,13) Zn^{2+}	0 de 1 (0 %)	0 de 1 (0 %)	0 de 1 (0 %)	--	0 de 3 (0 %)
0,3 ($CuSO_4$)	(0,079) Cu^{2+}					
5 ($ZnSO_4$)	(1,13) Zn^{2+}	3 de 3 (100 %)	2 de 2 (100 %)	3 de 3 (100 %)	1 de 2 (50 %)	9 de 10 (90 %)
0,3 ($CuSO_4$)	(0,079) Cu^{2+}	5 de 5 (100 %)	4 de 4 (100 %)	4 de 5 (80 %)	5 de 5 (100 %)	18 de 19 (94,7 %)

La adherencia de los choritos adultos y juveniles mediante las fibras del biso fue normal en al agua control con un 100 %. La adherencia en los choritos sobrevivientes al concluir los 7 días de exposición es afectada por la presencia simultánea de ambos metales. En los adultos solo logra fijarse un 16,7 % mientras que en el control se fija el 100 % de los ejemplares, una diferencia estadísticamente significativa (Anexo 1). Sin embargo, la sensibilidad de estos adultos parece ser mayor que en bioensayos anteriores porque la exposición a los metales por separado y a sus respectivas concentraciones NOEC, ésta vez generó menor adherencia (69 y 75 %) que lo debido (90 a 100 %). A pesar de la baja adherencia registrada en la solución de metales combinados (16,7 %), ésta no es significativamente diferente a la adherencia en las soluciones NOEC individuales de ambos metales, por lo que en sentido estricto no se puede concluir, al menos para los adultos, que la combinación de Zn^{2+} y Cu^{2+} sea considerablemente más toxica que los iones metálicos individuales.

En los juveniles la diferencia en el porcentaje de choritos fijados entre control (100 %) y iones combinados (0 %) es contundente y asociada a una alta mortalidad (85 %) de los juveniles expuestos. La adherencia de estos choritos en las soluciones de metales individuales a concentración NOEC fue de 90 % en Zn^{2+} y 94,7 % en Cu^{2+} de modo que se puede afirmar que los iones metálicos combinados ejercen un efecto sinérgico significativo inhibiendo la adherencia de los juveniles respecto al efecto de esos metales por separado (Anexo 2).



Las medidas de talla y peso de 5 individuos por tratamiento se presentan en el anexo 3 para el bioensayo con choritos adultos y en el anexo 4 para el bioensayo con los choritos juveniles. Además se incluye la acumulación de los metales en la carne de los bivalvos.



La comparación de los metales acumulados en la carne de los choritos adultos del control con respecto a los de la exposición simultánea a los NOEC de Zn y Cu muestra que en éste último el Zn^{2+} alcanzó un promedio tres veces superior a lo medido en el control (13,21 contra 39,51 $\mu\text{g/g}$), una diferencia estadísticamente significativa (test t, $p < 0,05$). La absorción de Zn^{2+} por parte de los choritos en una solución con un solo metal frente a la absorción en una solución con Zn^{2+} y Cu^{2+} resultó ser de 23,57 $\mu\text{g/g}$ de Zn^{2+} en una solución de solo este metal (informe 2365) y de 39,51 $\mu\text{g/g}$ en el combinado de Zn y Cu. La diferencia si bien estrecha es significativa (test t, $p < 0,05$). El cobre junto al zinc entonces no compite con éste y la acumulación de Zn^{2+} en choritos adultos es incluso mayor en la solución mixta de metales. También es posible que este resultado sea consecuencia de la condición fisiológica de los adultos, aparentemente no óptima.



A su vez el cobre en la carne de los choritos adultos no fue detectable en aquellos mantenidos en agua control, pero en la solución conjunta de ambos metales a concentración NOEC el Cu^{2+} se acumuló en promedio a $3,58 \pm 1,99 \mu\text{g/g}$. La mantención de choritos expuestos a solo Cu^{2+} llevó la acumulación del ión en carne a un promedio de 7,03 $\mu\text{g/g}$ (informe 2268), es decir casi el doble de lo registrado cuando Zn y Cu están ambos presentes en la solución, sin embargo la diferencia entre ambos no es significativa. La absorción de Cu sería menos afectada por la presencia de Zn en la misma solución que la situación opuesta.

Los bioensayos con juveniles de chorito expuestos al NOEC de ambos metales en una misma solución muestran que la acumulación de Zn^{2+} en la carne alcanza a 46,87 $\mu\text{g/g}$, mientras que en una solución de solo Zn^{2+} llega a 96,5 $\mu\text{g/g}$ (Informe 2367). La absorción de Zn^{2+} en presencia del NOEC de cobre se reduce a la mitad de lo que se absorbe en ausencia del cobre.

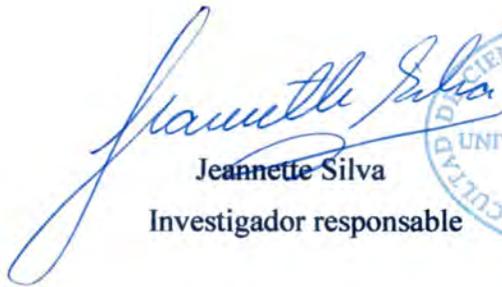
El cobre por su parte en solución mixta de metales registra concentración en la carne de juveniles de $11,07 \pm 6,83 \mu\text{g/g}$ y en solución de Cu^{2+} solo acumula 28,1 $\mu\text{g/g}$ (Informe 2363). La diferencia es estadísticamente significativa (Test t, $p < 0,05$) y permite concluir que el Cu^{2+} en concentración NOEC en el agua es captado por los choritos juveniles un 60 % menos en presencia de Zn^{2+} que estando solo.

CONCLUSIÓN:

- Las concentraciones individuales más altas de Zn^{2+} y Cu^{2+} carentes de efecto sobre la adherencia (NOEC) manifiestan un intenso sinergismo de sus propiedades tóxicas sobre los choritos juveniles al actuar combinadas en una misma solución.



- En los individuos adultos el efecto también se manifiesta pero su significancia es opacada por una aparente mayor sensibilidad de este grupo particular de choritos.
- El Zn^{2+} se acumula en choritos juveniles a niveles de 46,9 $\mu\text{g/g}$ desde una solución (NOEC) de Zn^{2+} de 1,13 mg/L (1,13 $\mu\text{g/g}$) y (NOEC) de Cu^{2+} de 0,079 mg/L (0,079 $\mu\text{g/g}$) en 7 días. Sin incorporar el NOEC de Cu^{2+} al agua con Zn^{2+} la absorción es mayor, 96,5 $\mu\text{g/g}$, de modo que el Cu^{2+} en el agua junto al Zn^{2+} reduce la acumulación del Zn^{2+} a la mitad.
- El Zn^{2+} se acumula en choritos adultos a niveles de 39,5 $\mu\text{g/g}$ desde una solución NOEC de Zn^{2+} y Cu^{2+} en 7 días. Sin incorporar el NOEC de Cu^{2+} al agua con Zn^{2+} la absorción es 23,57 $\mu\text{g/g}$, inferior a la anterior por lo que el Cu^{2+} no restringe la absorción de Zn^{2+} en los adultos.
- El Cu^{2+} se acumula en choritos juveniles a niveles de 11,07 $\mu\text{g/g}$ desde una solución (NOEC) de Zn^{2+} de 1,13 mg/L (1,13 $\mu\text{g/g}$) y (NOEC) de Cu^{2+} de 0,079 mg/L (0,079 $\mu\text{g/g}$) en 7 días. Sin incorporar el NOEC de Zn^{2+} al agua con Cu^{2+} la absorción es 28,1 $\mu\text{g/g}$, de modo que el Zn^{2+} en el agua junto al Cu^{2+} reduce la acumulación del Cu^{2+} en un 60 %.
- En los choritos adultos el Cu^{2+} acumulado en la carne es 3,58 $\mu\text{g/g}$ cuando se exponen a solución mixta de los NOEC de zinc y cobre y 7,03 $\mu\text{g/g}$ cuando se exponen a solo Cu^{2+} . La presencia de Zn^{2+} en el agua simultáneo al Cu^{2+} reduce a la mitad la absorción de Cu^{2+} , similar a lo registrado en los choritos chicos.


Jeannette Silva
Investigador responsable




Dr. Enrique Bay-Schmith B.
Director



Anexo 1: Análisis estadístico de los datos de fijación de *Mytilus chilensis* adultos expuestos a $Zn^{2+} + Cu^{2+}$ y a ambos metales por separado.

Zn + Cux chorito

File: AdAZC

Transform: NO TRANSFORMATION



ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	1.469	0.490	4.702
Within (Error)	12	1.249	0.104	
Total	15	2.718		



Critical F value = 3.49 (0.05,3,12)

Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP			
				0	0	0	0
2	Zn + Cu	0.505	0.250	\			
3	Zn	1.033	0.729	.	\		
4	Cu	1.056	0.750	.	.	\	
1	Control	1.345	1.000	*	.	.	\

* = significant difference (p=0.05)

Tukey value (4,12) = 4.20

. = no significant difference

s = 0.104



Anexo 2. Análisis estadístico de los datos de fijación de *Mytilus chilensis* juveniles expuestos a $Zn^{2+} + Cu^{2+}$ y a ambos metales por separado.

Zn + Cu x choritos chicos

File: ZCuCh

Transform: ARC SINE(SQUARE ROOT(Y))



ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	2.682	0.894	24.614
Within (Error)	12	0.436	0.036	
Total	15	3.117		



Critical F value = 3.49 (0.05,3,12)

Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP			
				0	0	0	0
2	Zn + Cu	0.340	0.100	\			
3	Zn	1.205	0.875	*	\		
4	Cu	1.286	0.950	*	.	\	
1	Control	1.345	1.000	*	.	.	\

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Tukey value (4,12) = 4.20 s = 0.036



Anexo 3: Talla y peso de 5 individuos adultos del bioensayo de *Mytilus chilensis* expuesto a $Zn^{2+} + Cu^{2+}$ y cuantificación de los metales acumulados en la carne.



Tratamiento	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)	Concentración Analítica ($\mu\text{g/g}$)	
				Zn^{2+}	Cu^{2+}
Control	Co-1	5,01	3,7	11,47	< LD
	Co-2	5,16	4,8	3,67	< LD
	Co-3	5,14	5,5	13,97	< LD
	Co-4	5,15	4,6	8,38	< LD
	Co-5	4,90	3,3	28,56	< LD
Promedio \pm DE:				13,21 \pm 9,40	< LD
$Zn^{2+} + Cu^{2+}$	C1-1	5,16	3,0	24,15	2,39
	C1-2	4,92	2,6	40,19	0,83
	C1-3	4,60	3,5	54,54	5,50
	C1-4	4,63	3,3	32,55	3,85
	C1-5	4,32	2,4	46,11	5,32
Promedio \pm DE:				39,51 \pm 11,77	3,58 \pm 1,99



Anexo 4: Talla y peso de 5 individuos juveniles del bioensayo de *Mytilus chilensis* expuesto a $Zn^{2+} + Cu^{2+}$ y cuantificación de los metales acumulados en la carne.



Tratamiento	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)	Concentración Analítica ($\mu\text{g/g}$)	
				Zn^{2+}	Cu^{2+}
Control	Co-1	3,34	1,0	18,29	< LD
	Co-2	2,98	0,5	30,16	< LD
	Co-3	2,95	0,8	23,24	< LD
	Co-4	2,7	0,6	40,52	< LD
	Co-5	3,0	0,4	58,93	< LD
Promedio \pm DE :				34,23 \pm 16,1	< LD
$Zn^{2+} + Cu^{2+}$	C1-1	2,94	0,4	55,64	20,32
	C1-2	2,82	0,7	63,0	9,38
	C1-3	2,85	0,7	37,86	1,99
	C1-4	3,03	0,8	45,04	14,55
	C1-5	3,0	0,7	41,58	9,12
Promedio \pm DE :				46,87 \pm 10,42	11,07 \pm 6,83



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2389

Fecha: 15 de marzo de 2016

SOLICITADO POR : IFOP
TIPO DE BIOENSAYO : Toxicidad Crónica
ESPECIE : *Mytilus chilensis* (chorito del sur, adultos y juveniles)
RESPUESTA MEDIDA : Adherencia al sustrato
FECHA INICIO BIOENSAYO : 4 de marzo de 2016
TIEMPO DE EXPOSICION : 7 días
COMPUESTO EVALUADO : Sulfato de zinc ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$) + Sulfato de cobre ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$)



CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO

UNIDAD EXPERIMENTAL : Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP. : 3 L
NUMERO REPLICAS : 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP. : 5
TAMAÑO DE ADULTOS : 4,5 – 6 cm de largo
TAMAÑO DE JUVENILES : 2,5 – 3,8 cm de largo
NUMERO DE TRATAMIENTOS : 2 (Control y concentración NOEC de ambos compuestos)
MEDIO DE DILUCION : Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD : 34 ‰
OXIGENO DISUELTO : Saturado por aireación continua
pH : 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO : 14 ± 1 °C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).

Se preparó una solución con ambos compuestos en una proporción 1:1 de las concentraciones correspondientes a los NOEC obtenidos de los bioensayos crónicos realizados anteriormente con cada una de las sales evaluadas. Las concentraciones preparadas fueron 5 mg/L para $ZnSO_4$ + 0,3 mg/L para $CuSO_4$, las cuales fueron disueltas



previamente en 500 mL de agua de mar tibia mediante agitador magnético durante una hora, incorporándose luego al volumen total de agua de mar (24 L).

Se prepararon 8 set de unidades experimentales: Zn + Cu combinado con choritos adultos, Zn + Cu combinado para choritos juveniles, Zn (NOEC) con adultos y otro con juveniles, Cu (NOEC) con adultos y otro con juveniles y control adulto y control juvenil. Se distribuyeron 5 choritos por unidad experimental de 3 L de solución con 4 réplicas por tratamiento. Los envases se mantuvieron con aireación continua en una cámara con temperatura controlada a 14 °C, con recambio del medio cada 48 h. En cada recambio se lavó el envase y se retiraron los bivalvos muertos. El efecto crónico se determinó contabilizando, al término del período de exposición (7 días), el número de organismos adheridos a las paredes del envase o entre ellos y los carentes de fibras de adherencia (biso), sueltos en el recipiente. La comparación de los datos de adherencia de los choritos adultos y juveniles al sustrato fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA seguido del test TUKEY del paquete estadístico Toxstat (Anexo 1).



RESULTADOS:

El resultado del bioensayo crónico con adultos y juveniles de *Mytilus chilensis* expuestos a la combinación de ZnSO₄ + CuSO₄ en agua de mar a las respectivas concentraciones NOEC y de choritos expuestos a los metales individualmente a su concentración NOEC se presenta en la tabla 1 para adultos y en la tabla 2 para juveniles.

Tabla 1: Número de ejemplares adultos del bivalvo *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos simultáneamente por 7 días a concentraciones nominales NOEC de Zn²⁺ y Cu²⁺ y a concentración NOEC individual de Zn²⁺ y concentración NOEC individual de Cu²⁺.

Concentración equivalente al NOEC de la sal completa (mg/L)	NOEC ión (mg/L)	Nº de adheridos del Nº total de sobrevivientes				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	--	5 de 5 (100 %)	4 de 4 (100 %)	5 de 5 (100 %)	4 de 4 (80 %)	18 de 18 (100 %)
5 (ZnSO ₄)	(1,13) Zn ²⁺	1 de 1 (100 %)	0 de 2 (0 %)	0 de 1 (0 %)	0 de 2 (0 %)	1 de 6 (16,7 %)
0,3 (CuSO ₄)	(0,079) Cu ²⁺					
5 (ZnSO ₄)	(1,13) Zn ²⁺	2 de 4 (50 %)	3 de 4 (75 %)	2 de 2 (100 %)	2 de 3 (66,7 %)	9 de 13 (69 %)
0,3 (CuSO ₄)	(0,079) Cu ²⁺	4 de 5 (80 %)	3 de 5 (60 %)	5 de 5 (100 %)	3 de 5 (60 %)	15 de 20 (75 %)



Tabla 2: Número de ejemplares juveniles del bivalvo *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos simultáneamente por 7 días a concentraciones nominales NOEC de Zn^{2+} y Cu^{2+} y a concentración NOEC individual de Zn^{2+} y concentración NOEC individual de Cu^{2+} .



Concentración equivalente al NOEC de la sal completa (mg/L)	NOEC ión (mg/L)	N° de adheridos del N° total de sobrevivientes				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	--	5 de 5 (100 %)	5 de 5 (100 %)	5 de 5 (100 %)	5 de 5 (100 %)	20 de 20 (100 %)
5 ($ZnSO_4$)	(1,13) Zn^{2+}	0 de 1 (0 %)	0 de 1 (0 %)	0 de 1 (0 %)	--	0 de 3 (0 %)
0,3 ($CuSO_4$)	(0,079) Cu^{2+}					
5 ($ZnSO_4$)	(1,13) Zn^{2+}	3 de 3 (100 %)	2 de 2 (100 %)	3 de 3 (100 %)	1 de 2 (50 %)	9 de 10 (90 %)
0,3 ($CuSO_4$)	(0,079) Cu^{2+}	5 de 5 (100 %)	4 de 4 (100 %)	4 de 5 (80 %)	5 de 5 (100 %)	18 de 19 (94,7 %)

La adherencia de los choritos adultos y juveniles mediante las fibras del biso fue normal en al agua control con un 100 %. La adherencia en los choritos sobrevivientes al concluir los 7 días de exposición es afectada por la presencia simultánea de ambos metales. En los adultos solo logra fijarse un 16,7 % mientras que en el control se fija el 100 % de los ejemplares, una diferencia estadísticamente significativa (Anexo 1). Sin embargo, la sensibilidad de estos adultos parece ser mayor que en bioensayos anteriores porque la exposición a los metales por separado y a sus respectivas concentraciones NOEC, ésta vez generó menor adherencia (69 y 75 %) que lo debido (90 a 100 %). A pesar de la baja adherencia registrada en la solución de metales combinados (16,7 %), ésta no es significativamente diferente a la adherencia en las soluciones NOEC individuales de ambos metales, por lo que en sentido estricto no se puede concluir, al menos para los adultos, que la combinación de Zn^{2+} y Cu^{2+} sea considerablemente más toxica que los iones metálicos individuales.

En los juveniles la diferencia en el porcentaje de choritos fijados entre control (100 %) y iones combinados (0 %) es contundente y asociada a una alta mortalidad (85 %) de los juveniles expuestos. La adherencia de estos choritos en las soluciones de metales individuales a concentración NOEC fue de 90 % en Zn^{2+} y 94,7 % en Cu^{2+} de modo que se puede afirmar que los iones metálicos combinados ejercen un efecto sinérgico significativo inhibiendo la adherencia de los juveniles respecto al efecto de esos metales por separado (Anexo 2).



Las medidas de talla y peso de 5 individuos por tratamiento se presentan en el anexo 3 para el bioensayo con choritos adultos y en el anexo 4 para el bioensayo con los choritos juveniles.



CONCLUSIÓN:

- Las concentraciones individuales más altas de Zn^{2+} y Cu^{2+} carentes de efecto sobre la adherencia (NOEC) manifiestan un intenso sinergismo de sus propiedades tóxicas sobre los choritos juveniles al actuar combinadas en una misma solución.
- En los individuos adultos el efecto también se manifiesta pero su significancia es opacada por una aparente mayor sensibilidad de este grupo particular de choritos.



Jeannette Silva
Investigador responsable



Dr. Enrique Bay-Schmith B.
Director



Anexo 1: Análisis estadístico de los datos de fijación de *Mytilus chilensis* adultos expuestos a $Zn^{2+} + Cu^{2+}$ y a ambos metales por separado.

Zn + Cux chorito

File: AdAZC

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE



SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	1.469	0.490	4.702
Within (Error)	12	1.249	0.104	
Total	15	2.718		

Critical F value = 3.49 (0.05,3,12)

Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal



TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP			
				0	0	0	0
2	Zn + Cu	0.505	0.250	\			
3	Zn	1.033	0.729	.	\		
4	Cu	1.056	0.750	.	.	\	
1	Control	1.345	1.000	*	.	.	\

* = significant difference (p=0.05)

Tukey value (4,12) = 4.20

. = no significant difference

s = 0.104



Anexo 2. Análisis estadístico de los datos de fijación de *Mytilus chilensis* juveniles expuestos a $Zn^{2+} + Cu^{2+}$ y a ambos metales por separado.

Zn + Cu x choritos chicos
 File: ZCuCh Transform: ARC SINE(SQUARE ROOT(Y))



ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	2.682	0.894	24.614
Within (Error)	12	0.436	0.036	
Total	15	3.117		



Critical F value = 3.49 (0.05,3,12)
 Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP			
				0	0	0	0
2	Zn + Cu	0.340	0.100	\			
3	Zn	1.205	0.875	*	\		
4	Cu	1.286	0.950	*	.	\	
1	Control	1.345	1.000	*	.	.	\

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Tukey value (4,12) = 4.20 s = 0.036



Anexo 3: Talla y peso de 5 individuos adultos del bioensayo de *Mytilus chilensis* expuesto a $Zn^{2+} + Cu^{2+}$.



Concentración grupo	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)
Control	Co-1	5,01	3,7
	Co-2	5,16	4,8
	Co-3	5,14	5,5
	Co-4	5,15	4,6
	Co-5	4,90	3,3
Zn + Cu	C1-1	5,16	3,0
	C1-2	4,92	2,6
	C1-3	4,60	3,5
	C1-4	4,63	3,3
	C1-5	4,32	2,4

Anexo 4: Talla y peso de 5 individuos juveniles del bioensayo de *Mytilus chilensis* expuesto a $Zn^{2+} + Cu^{2+}$.

Concentración grupo	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)
Control	Co-1	3,34	1,0
	Co-2	2,98	0,5
	Co-3	2,95	0,8
	Co-4	2,7	0,6
	Co-5	3,0	0,4
Zn + Cu	C1-1	2,94	0,4
	C1-2	2,82	0,7
	C1-3	2,85	0,7
	C1-4	3,03	0,8
	C1-5	3,0	0,7



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2367

Fecha: 24 de febrero de 2016



SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Toxicidad Crónica
ESPECIE	: <i>Mytilus chilensis</i> (chorito del sur, juveniles)
RESPUESTA MEDIDA	: Adherencia al sustrato
FECHA INICIO BIOENSAYO	: 8 de enero de 2016
TIEMPO DE EXPOSICION	: 7 días
COMPUESTO EVALUADO	: Sulfato de zinc ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$) (Sigma-Aldrich)

CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO



UNIDAD EXPERIMENTAL	: Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP.	: 3 L
NUMERO REPLICAS	: 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP.	: 5
TAMAÑO DE JUVENILES	: 2,5 – 3,8 cm de largo
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 8 (Control y 7 concentraciones de $ZnSO_4$)
MEDIO DE DILUCION	: Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD	: 34 ‰
OXIGENO DISUELTO	: Saturado por aireación continua
pH	: 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO	: 14 ± 1 °C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

La solución de mayor concentración de sulfato de zinc se preparó por disolución de 7,2 g $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ en 500 mL de agua de mar tibia mediante agitador magnético durante una hora y luego se incorporó al volumen total de agua de mar (24 L). El gradiente de concentraciones se preparó con un factor de dilución de 0,5.

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).

Se distribuyeron 5 juveniles de chorito (2,5 a 3,8 cm de largo) por unidad experimental de 3 L de solución con 4 réplicas por tratamiento. Los envases se mantuvieron con aireación continua en una cámara con temperatura controlada a 14 °C, con recambio del



medio cada 48 h. En cada recambio se lavó el envase y se retiraron los bivalvos muertos. El efecto crónico se determinó contabilizando, al término del período de exposición (7 días), el número de organismos adheridos a las paredes del envase o entre ellos y los carentes de fibras de adherencia (biso), sueltos en el recipiente.



RESULTADOS:

El resultado del bioensayo crónico con juveniles de *Mytilus chilensis* expuestos a una serie de concentraciones de ZnSO₄ en agua de mar se presenta en la tabla 1.

La adherencia de los choritos mediante las fibras del biso fue normal en al agua control con un 100 % de adherencia. La adherencia en los choritos sobrevivientes al concluir los 7 días de exposición es notoriamente afectada por el incremento de la concentración de zinc disuelto en el agua de mar. Los datos de adherencia de los choritos al sustrato o entre sí fueron analizados estadísticamente mediante el test Dunnett del paquete estadístico Toxstat, En términos de la concentración nominal del ión Zn²⁺ disuelto el NOEC sería 1,13 mg/L y el LOEC sería 2,27 mg/L.



* NOEC = es la mayor concentración de Zn²⁺ en la cual la adherencia de los choritos es estadísticamente igual a la del grupo control.

⊙ LOEC= es la menor concentración de Zn²⁺ en la cual hay diferencias estadísticamente significativas en la adherencia de los choritos respecto al grupo control.

Tabla 1: Número de ejemplares juveniles del bivalvo *Mytilus chilensis* adheridos al envase mediante fibras del biso al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ión Zn²⁺ [] disuelto a partir de ZnSO₄.

ZnSO ₄ ·7 H ₂ O (mg/L)	Zn ⁺⁺ (mg/L) (nominal) [disuelto]	Nº de adheridos del Nº total de sobrevivientes expuestos				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	0 [0,006]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100)
0,3	(0,07) [0,016]	5 de 5	5 de 5	5 de 4	5 de 5	20 de 20 (100)
0,6	(0,14) [0,023]	4 de 5	3 de 5	4 de 4	3 de 5	14 de 20 (70)
1,25	(0,28) [0,037]	5 de 5	5 de 5	5 de 5	4 de 5	19 de 20 (95)
2,5	(0,56) [0,299]	4 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	19 de 20 (95)
5,0	(1,13) [0,599]	4 de 5	4 de 5	5 de 5	5 de 5	18 de 20 (90)



10	(2,27) [1,252]	0 de 4	1 de 5	0 de 4	1 de 5	2 de 18 (25)
20	(4,55) [4,879]	0 de 2	0 de 1	0 de 3	0 de 4	0 de 10 (0)

Los datos de medidas de talla y peso de 5 individuos por tratamiento se presentan en el anexo 2. La concentración de zinc en los choritos expuestos a un rango (nominal) entre 0,07 y 9,1 mg/L (0,06 y 7,7 mg/L cuantificado analíticamente) muestra un descenso con el incremento del ión disuelto en las primeras tres concentraciones y luego sube gradualmente en paralelo con el incremento del ión en el agua. El cambio drástico en la adherencia de los choritos desde un 90 % a un 10 % de adheridos al pasar de una solución con 1,13 mg/L de Zn a una de 2,27 mg/L no puede explicarse adecuadamente considerando el Zn bioacumulado en los choritos dado que en esa transición el promedio de Zn en la carne sube de 96,5 a 122,6 µg/g, en tanto que choritos que acumularon 116,2 µg/g no manifiestan inhibición de la adherencia al estar en agua con baja concentración (0,016 mg/L) de Zn²⁺ disuelto.



CONCLUSIÓN:

- Los valores nominales de NOEC y LOEC calculados para el ión Zn²⁺ sobre la adherencia de juveniles son: NOEC = 1,13 mg/L y LOEC = 2,27 mg/L.
- Los valores NOEC y LOEC expresados en función del ión Zn²⁺ medido analíticamente en las soluciones son: NOEC = 0,599 mg/L y LOEC = 1,252 mg/L.
- La concentración de ión Zn²⁺ en la carne de los choritos expuestos al NOEC de la adherencia es en promedio 96,5 (± 22,4) ug/g.
- El Zn bioacumulado en la carne del chorito juvenil no explica adecuadamente la pérdida de la capacidad de adherirse de estos moluscos con el incremento de la concentración.

Jeannette Silva
 Jeannette Silva
 Investigador responsable



Dr. Enrique Bay-Schmith B.
 Dr. Enrique Bay-Schmith B.
 Director



Anexo 1: Análisis estadístico de los datos de fijación de *Mytilus chilensis* expuesto a Zn²⁺.
 Cálculo de NOEC y LOEC.

cronico *Mytilus chilensis* chicos /Zn
 File: E:\CHZINC. Transform: NO TRANSFORMATION



ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	7	119.453	17.065	48.194
Within (Error)	24	8.498	0.354	
Total	31	127.951		



Critical F value = 2.42 (0.05, 7, 24)
 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	5.000	5.000		
2 0.07	5.000	5.000	0.000	
3 0.14	3.500	3.500	3.565	*
4 0.28	4.750	4.750	0.594	
5 0.56	4.750	4.750	0.594	
6 1.13	4.500	4.500	1.188	
7 2.27	0.501	0.501	10.694	*
8 4.55	0.001	0.001	11.880	*

Dunnett table value = 2.81 (2 Tailed Value, P=0.05, df=21, 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	4			
2 0.07	4	1.182	23.6	0.000
3 0.14	4	1.182	23.6	1.500
4 0.28	4	1.182	23.6	0.250
5 0.56	4	1.182	23.6	0.250
6 1.13	4	1.182	23.6	0.500
7 2.27	4	1.182	23.6	4.499
8 4.55	4	1.182	23.6	4.999



Anexo 2: Datos de talla y peso de 5 individuos por tratamiento del bioensayo de *Mytilus chilensis* juveniles expuesto a Zn^{2+} .



Concentración analítica de Zn^{2+} en agua (mg/L)	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)	Concentración analítica en la carne ($\mu\text{g/g}$)
0,006	Co-1	3,44	1,1	13,57
	Co-2	3,27	1,4	2,17
	Co-3	3,39	1,4	8,14
	Co-4	3,32	1,1	39,7
	Co-5	3,42	1,3	3,34
				Promedio: 6,24
0,016	C1-1	3,31	1,1	112,7
	C1-2	3,6	1,5	105,6
	C1-3	3,45	1,0	169,2
	C1-4	3,21	1,0	102,6
	C1-5	3,04	0,7	91,1
				Promedio: 116,2
0,023	C2-1	3,28	0,9	134,0
	C2-2	3,79	1,8	123,1
	C2-3	3,54	1,3	97,2
	C2-4	3,28	1,4	127,9
	C2-5	3,57	1,4	56,4
				Promedio: 107,7
0,037	C3-1	3,66	2,0	86,0
	C3-2	3,65	1,4	84,4
	C3-3	3,4	1,6	61,4
	C3-4	3,49	1,7	42,3
	C3-5	3,46	1,4	36,2
				Promedio: 62,1



0,299	C4-1	3,76	1,6	85,3
	C4-2	3,66	1,4	116,7
	C4-3	3,54	1,4	118,7
	C4-4	3,54	1,9	41,2
	C4-5	3,5	1,3	44,0
				Promedio: 81,2
0,599	C5-1	3,53	1,6	77,9
	C5-2	3,36	1,2	76,6
	C5-3	3,64	1,4	125,5
	C5-4	3,64	1,6	115,1
	C5-5	3,45	1,3	87,6
				Promedio: 96,5
1,252	C6-1	3,34	1,2	138,0
	C6-2	3,54	1,0	73,4
	C6-3	3,33	1,0	124,2
	C6-4	3,49	1,3	112,8
	C6-5	3,42	0,9	164,8
				Promedio: 122,6
4,879	C7-1	3,8	1,5	127,5
	C7-2	3,35	1,1	173,2
	C7-3	3,36	1,9	106,9
	C7-4	3,58	1,2	214,5
	C7-5	3,86	1,5	151,0
				Promedio: 154,6
~7,719	C8-1	3,74	1,7	110,1
	C8-2	3,44	0,8	217,7
	C8-3	3,5	1,3	194,5
	C8-4	3,81	1,6	172,1
	C8-5	3,64	1,2	140,7
				Promedio: 167,0



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2364

Fecha: 24 de febrero de 2016



SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Toxicidad aguda
ESPECIE	: <i>Mytilus chilensis</i> (chorito del sur, adulto)
RESPUESTA MEDIDA	: Mortalidad
FECHA INICIO BIOENSAYO	: 1 de febrero de 2016
TIEMPO DE EXPOSICION	: 7 días
COMPUESTO EVALUADO	: Sulfato de zinc ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$) (Sigma-Aldrich)

CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO



UNIDAD EXPERIMENTAL	: Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP.	: 3 L
NUMERO REPLICAS	: 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP.	: 5
TAMAÑO CHORITO ADULTO	: 4,5 – 6 cm
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 9 (Control y 8 concentraciones de $ZnSO_4$)
MEDIO DE DILUCION	: Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD	: 34 ‰
OXIGENO DISUELTO	: Saturado por aireación continua
pH	: 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO	: 14° C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

Se decidió cambiar el óxido de zinc por sulfato de zinc, ya que el primero tiene una baja solubilidad en agua de mar, quedando gran parte de este compuesto insoluble, por lo tanto no biodisponible. La solución de sulfato de zinc se preparó disolviendo 7,2 g de $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ mediante agitador magnético durante una hora en 500 mL de agua de mar tibia y luego se incorporó al volumen total de agua de mar (24 L). El gradiente de concentraciones se preparó con un factor de dilución de 0,5.

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).

Se distribuyeron 5 adultos de chorito (4,5 a 6 cm de largo) por unidad experimental de 3 L de solución con 4 réplicas por tratamiento. Los envases se mantuvieron con aireación continua en una cámara con una temperatura controlada a 14 ± 1 °C, con recambio del



medio cada 48 h. En cada recambio se lavó el envase y se retiraron los bivalvos muertos. El efecto letal se determinó contabilizando, al término del período de exposición, el número de choritos sobrevivientes y el acumulativo de muertos.

RESULTADO:



El resultado del bioensayo agudo con adultos de *Mytilus chilensis* expuesto a una serie de concentraciones de ZnSO₄ se presenta en la tabla 1.

Tabla 1: Número de ejemplares del bivalvo *Mytilus chilensis* muertos al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales de Zinc. Concentración de la sal completa (ZnSO₄) y del ión Zn²⁺ disuelto.



ZnSO ₄ ·7 H ₂ O (mg/L)	Zn ²⁺ (mg/L) (nominal) [disuelto]	N° de muertos del N° total de expuestos				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	(0) [0,0064]	1 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	1 de 20 (0)
2,34	(0,53) [0,0159]	0 de 5	0 de 5	1 de 5	0 de 5	1 de 20 (5)
4,68	(1,06) [0,0229]	0 de 5	0 de 5	1 de 5	0 de 5	1 de 20 (5)
9,37	(2,13) [0,0375]	1 de 5	1 de 5	0 de 5	0 de 5	2 de 20 (10)
18,75	(4,26) [0,2992]	3 de 5	3 de 5	3 de 5	1 de 5	10 de 20 (50)
37,5	(8,53) [0,5993]	3 de 5	3 de 5	3 de 5	2 de 5	11 de 20 (55)
75	(17,06) [1,2517]	4 de 5	3 de 5	3 de 5	2 de 5	12 de 20 (60)
150	(34,13) [4,8787]	2 de 5	2 de 5	4 de 5	3 de 5	11 de 20 (55)
300	(68,26) [4,6867]	4 de 5	3 de 5	2 de 5	3 de 5	12 de 20 (60)



En el análisis estadístico de los datos de mortalidad se utilizó el test SPEARMAN-KARBER (Anexo 1) para el cálculo de la CL_{50-7d} * del Zn^{2+} , obteniéndose un valor de 8,4 mg/L con un intervalo de confianza entre 1,3 y 54,15 mg/L.

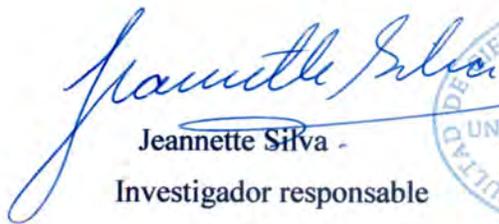
* Es la concentración de un tóxico que provoca la mortalidad del 50 % de los bivalvos expuestos por un período de 7 días.



CONCLUSIÓN:

- La CL_{50-7d} nominal del Zn^{2+} para adultos de *M. chilensis* es 8,4 mg/L, con un intervalo de confianza entre 1,3 y 54,15 mg/L.
- La CL_{50-7d} expresada en la concentración del Zn^{2+} medida en el agua sería 0,59 mg/L.
- La concentración de Zn^{2+} en la carne de los choritos expuestos a la solución correspondiente a la CL_{50} fue en promedio 102 (\pm 21) μ g/g.
- En comparación con el cobre, el zinc es menos tóxico. A pesar de exponer los choritos adultos hasta 68,3 mg/L nominales del ión, solo murió un 60 % de ellos.




Jeannette Silva -
Investigador responsable




Dr. Enrique Bay-Schmith B.
Director



Anexo 1: Análisis estadístico de los datos de mortalidad de *Mytilus chilensis* expuesto a Zn^{2+} . Cálculo de la CL_{50-7d} .

DATE: febrero 2016 TEST NUMBER: 5 DURATION: 7 d
TOXICANT : Zinc
SPECIES: *Mytilus chilensis*



RAW DATA:	Concentration (mg/L)	Number Exposed	Mortalities
----	.00	20	1
	.53	20	1
	1.06	20	1
	2.13	20	2
	4.26	20	10
	8.53	20	11
	17.06	20	12
	34.13	20	11
	68.26	20	12



SPEARMAN-KARBER TRIM: 42.11%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: **LC50: 8.40**
95% LOWER CONFIDENCE: 1.30
95% UPPER CONFIDENCE: 54.15



Anexo 2: Datos de talla y peso de 5 individuos por tratamiento del bioensayo de adultos de *Mytilus chilensis* expuesto a Zn^{2+} .



Concentración analítica de Zn^{2+} en agua (mg/L)	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)	Concentración Zn^{2+} analítica en la carne ($\mu\text{g/g}$)
0,006	Co-1	4,9	3,5	7,971
	Co-2	5,21	3,8	8,311
	Co-3	5,24	4,8	0,145
	Co-4	5,05	3,7	9,422
	Co-5	4,94	4,4	4,575
				Promedio: 6,085
0,016	C1-1	4,92	3,1	33,016
	C1-2	4,92	4,1	17,089
	C1-3	5,0	4,7	16,336
	C1-4	5,06	4,2	29,996
	C1-5	4,94	3,0	23,362
				Promedio: 23,96
0,023	C2-1	5,13	4,3	26,411
	C2-2	5,66	5,6	34,895
	C2-3	5,34	5,1	10,632
	C2-4	5,46	5,6	22,158
	C2-5	5,18	4,1	23,757
				Promedio: 23,571
0,037	C3-1	5,09	3,7	34,067
	C3-2	5,36	4,6	96,801
	C3-3	5,77	5,2	40,059
	C3-4	5,36	4,1	58,432
	C3-5	5,08	4,1	36,438
				Promedio: 53,159



0,299	C4-1	4,61	2,8	39,285
	C4-2	4,83	3,1	107,652
	C4-3	5,03	3,8	81,737
	C4-4	5,56	4,0	57,944
	C4-5	4,87	3,2	158,449
				Promedio: 89,013
0,599	C5-1	4,33	3,1	109,230
	C5-2	5,0	2,5	135,666
	C5-3	4,84	3,5	84,995
	C5-4	5,16	4,2	86,847
	C5-5	4,80	2,8	93,503
				Promedio: 102,048
1,252	C6-1	5,30	3,6	117,514
	C6-2	5,14	3,7	69,793
	C6-3	5,11	3,5	115,570
	C6-4	5,35	4,3	96,958
	C6-5	4,65	2,8	91,664
				Promedio: 98,3
4,879	C7-1	5,13	4,0	101,160
	C7-2	4,90	3,3	143,959
	C7-3	5,22	3,6	86,198
	C7-4	5,18	4,0	89,760
	C7-5	4,57	2,8	96,036
				Promedio: 103,423
~7,719	C8-1	5,32	4,2	109,377
	C8-2	4,55	3,3	108,884
	C8-3	4,75	3,2	138,467
	C8-4	4,74	3,0	162,563
	C8-5	4,80	3,0	125,434
				Promedio: 128,945



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2260

Fecha: 24 de diciembre de 2016



SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Toxicidad aguda
ESPECIE	: <i>Mytilus chilensis</i> (chorito del sur adulto)
RESPUESTA MEDIDA	: Mortalidad
FECHA INICIO BIOENSAYO	: 17 de diciembre de 2015
TIEMPO DE EXPOSICION	: 7 días

CONDICION DE LA MUESTRA PREVIO AL BIOENSAYO

TIPO DE MUESTRA : Sulfato de cobre (Sigma-Aldrich)



CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO

UNIDAD EXPERIMENTAL	: Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP.	: 3 L
NUMERO REPLICAS	: 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP.	: 5
TAMAÑO CHORITO ADULTO	: 4,5 – 6 cm
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 9 (Control y 8 concentraciones de CuSO_4)
MEDIO DE DILUCION	: Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD	: 34 ‰
OXIGENO DISUELTO	: Saturado por aireación continua
pH	: 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO	: 14° C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

Se decidió cambiar el óxido cuproso por sulfato de cobre, ya que el primero tiene una baja solubilidad en agua de mar, quedando gran parte de este compuesto insoluble, por lo tanto no biodisponible. 0,24 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) se solubilizó mediante agitador magnético durante una hora en 500 mL de agua de mar tibia y luego se incorporó al volumen total preparado (24 L). El gradiente de concentraciones se preparó con un factor de dilución de 0,5.

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).



El efecto letal se determinó contabilizando, al término del período de exposición, el número de choritos sobrevivientes y el acumulativo de muertos.

RESULTADOS:

El resultado del bioensayo agudo con *Mytilus chilensis* expuesto a una serie de concentraciones de CuSO_4 se presenta en la tabla 1.



Tabla 1: Número de ejemplares del bivalvo *Mytilus chilensis* muertos al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ión Cu^{+2} [] disuelto a partir de CuSO_4 .

Conc. $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ (mg/L)	Cu^{+2} (mg/L) (nominal) [disuelto]	N° de muertos del N° total de expuestos				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	0 [0,0036]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
0,15	(0,038) [0,0112]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
0,3	(0,079) [0,0188]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
0,6	(0,159) [0,0348]	1 de 5	3 de 5	0 de 5	0 de 5	4 de 20 (20)
1,25	(0,318) [0,2842]	4 de 5	4 de 5	4 de 5	4 de 5	16 de 20 (80)
2,5	(0,636) [0,5107]	4 de 5	5 de 5	3 de 5	5 de 5	17 de 20 (85)
5,0	(1,272) [0,7602]	5 de 5	4 de 5	5 de 5	4 de 5	18 de 20 (90)
10	(2,545) [1,4237]	4 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	19 de 20 (95)
20	(5,090)	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100)



En el análisis estadístico de los datos de mortalidad se utilizó el test SPEARMAN-KARBER (Anexo 1) para el cálculo de la CL_{50-7d} * para Cu^{2+} , obteniéndose un valor de 0,26 mg/L con un intervalo de confianza entre 0,21 y 0,34 mg/L.

* Es la concentración de ión Cu que provoca la mortalidad del 50 % de los bivalvos expuestos por un período de 7 días.



Las medidas de talla, peso y concentración de cobre en 5 individuos muestreados por tratamiento se presenta en el anexo 2.

Si se considera que la CL_{50-7d} calculada en base a concentraciones nominales de Cu^{2+} es un valor intermedio entre las concentraciones 0,159 y 0,318 mg/L y las concentraciones medidas analíticamente en esas soluciones fue un 22 y 89 % de las nominales respectivamente, una estimación de la CL_{50-7d} en términos de ión cobre efectivamente disuelto sería un 55 % (promedio entre 22 y 89) del valor nominal (0,28 mg/L), es decir 0,154 mg/L.

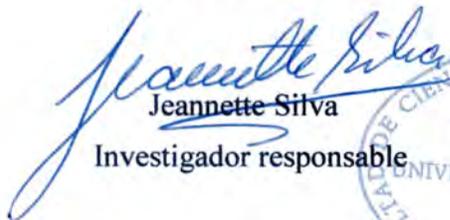


El Cu^{2+} acumulado en los tejidos blandos del chorito durante 7 días de exposición a un gradiente de concentración del ión muestra un aumento acorde con el incremento de la concentración en el agua pero solo en las concentraciones más bajas. Luego se estabiliza entre 11 y 13 $\mu g/g$ mientras la concentración en el agua sube de 34,8 a 510 mg/L. El cobre vuelve a aumentar en la carne del chorito a consecuencia del incremento del ión disuelto entre 760 y 1.423 mg/L.

La relación entre el cobre bioconcentrado y la mortalidad de los choritos es poco clara, en cambio la relación concentración en el agua – mortalidad sigue el patrón característico de elementos tóxicos disueltos en agua.

CONCLUSIÓN:

- La CL_{50-7d} nominal del Cu^{2+} para adultos de *M. chilensis* es 0,28 mg/L, con un intervalo de confianza entre 0,22 y 0,35 mg/L.
- La CL_{50-7d} del Cu^{2+} medido analíticamente en el agua sería 0,154 mg/L.
- La relación entre el Cu^{2+} acumulado en los choritos y la mortalidad es poco clara.


Jeannette Silva
Investigador responsable




Dr. Enrique Bay-Schmith B.
Director



Anexo 1: Análisis estadístico de los datos de mortalidad de *Mytilus chilensis* expuesto al ión Cu^{2+} . Cálculo de la $\text{CL}_{50-7\text{d}}$.

DATE: 20 enero TEST NUMBER: 4 DURATION: 7 d
TOXICANT : Cu
SPECIES: *Mytilus chilensis*



RAW DATA:	Concentration (mg/L)	Number Exposed	Mortalities
-----	.00	20	0
	.08	20	0
	.16	20	4
	.32	20	16
	.64	20	17
	1.27	20	18
	2.55	20	19
	5.09	20	20



SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: **LC50: .28**
95% LOWER CONFIDENCE: .22
95% UPPER CONFIDENCE: .35



Anexo 2. Medidas de talla y peso de 5 individuos muestreados por tratamiento y datos de la concentración analítica de cobre en el agua y en los choritos.



Concentración analítica de Cu ²⁺ en agua (µg/L)	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)	Concentración analítica de Cu ²⁺ en carne (µg/g)
3,6	Co-1	6,5	6,3	0,762
	Co-2	5,91	5,4	0,957
	Co-3	5,51	6,2	1,753
	Co-4	5,8	4,5	1,662
	Co-5	5,72	4,3	1,208
				Promedio: 1,268
11,2	C1-1	5,67	6,4	9,962
	C1-2	5,02	3,3	3,804
	C1-3	5,34	3,6	6,357
	C1-4	5,41	3,4	5,68
	C1-5	5,80	5,5	6,442
				Promedio: 6,449
18,8	C2-1	5,99	5,7	2,368
	C2-2	6,15	7,3	4,544
	C2-3	5,54	5,4	17,089
	C2-4	5,81	5,1	5,539
	C2-5	6,0	5,6	5,598
				Promedio: 7,028
34,8	C3-1	5,32	4,5	9,098
	C3-2	5,66	5,3	13,638
	C3-3	5,66	5,3	17,484
	C3-4	5,59	4,4	15,602
	C3-5	4,94	2,8	3,5
				Promedio: 11,864



284,2	C4-1	6,22	5,6	7,925
	C4-2	6,10	5,2	11,332
	C4-3	5,23	4,4	14,353
	C4-4	5,26	3,7	14,852
	C4-5	5,10	3,8	6,41
				Promedio: 10,974
510,7	C5-1	5,65	5,9	22,513
	C5-2	5,0	3,1	5,592
	C5-3	4,4	2,9	5,945
	C5-4	5,32	4,1	6,639
	C5-5	5,80	5,1	23,51
				Promedio: 12,840
760,2	C6-1	6,5	5,7 (m)	6,904
	C6-2	5,5	4,2	44,599
	C6-3	5,47	3,1	28,165
	C6-4	5,38	4,6	15,666
	C6-5	5,24	3,3 (m)	12,908
				Promedio: 21,648
1.423,7	C7-1	5,30	4,7 (m)	25,744
	C7-2	5,84	5,0 (m)	35,872
	C7-3	5,56	4,2 (m)	43,281
	C7-4	5,52	3,7 (m)	43,417
	C7-5	6,26	4,0 (m)	44,288
				Promedio: 38,520

LD: 0,210 (µg/g)



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2260

Fecha: 24 de diciembre de 2016

SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Toxicidad aguda
ESPECIE	: <i>Mytilus chilensis</i> (chorito del sur adulto)
RESPUESTA MEDIDA	: Mortalidad
FECHA INICIO BIOENSAYO	: 17 de diciembre de 2015
TIEMPO DE EXPOSICION	: 7 días



CONDICION DE LA MUESTRA PREVIO AL BIOENSAYO

TIPO DE MUESTRA : Sulfato de cobre (Sigma-Aldrich)



CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO

UNIDAD EXPERIMENTAL	: Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP.	: 3 L
NUMERO REPLICAS	: 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP.	: 5
TAMAÑO CHORITO ADULTO	: 4,5 – 6 cm
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 9 (Control y 8 concentraciones de CuSO ₄)
MEDIO DE DILUCION	: Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD	: 34 ‰
OXIGENO DISUELTO	: Saturado por aireación continua
pH	: 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO	: 14° C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

Se decidió cambiar el óxido cuproso por sulfato de cobre, ya que el primero tiene una baja solubilidad en agua de mar, quedando gran parte de este compuesto insoluble, por lo tanto no biodisponible. 0,24 g de sulfato de cobre (CuSO₄.5 H₂O) se solubilizó mediante agitador magnético durante una hora en 500 mL de agua de mar tibia y luego se incorporó al volumen total preparado (24 L). El gradiente de concentraciones se preparó con un factor de dilución de 0,5.

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).



El efecto letal se determinó contabilizando, al término del período de exposición, el número de choritos sobrevivientes y el acumulativo de muertos.

RESULTADOS:

El resultado del bioensayo agudo con *Mytilus chilensis* expuesto a una serie de concentraciones de CuSO_4 se presenta en la tabla 1.



Tabla 1: Número de ejemplares del bivalvo *Mytilus chilensis* muertos al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ión Cu^{+2} [] disuelto a partir de CuSO_4 .

Conc. $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ (mg/L)	Cu^{+2} (mg/L) (nominal) [disuelto]	Nº de muertos del Nº total de expuestos				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	0 [0,0036]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
0,15	(0,038) [0,0112]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
0,3	(0,079) [0,0188]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
0,6	(0,159) [0,0348]	1 de 5	3 de 5	0 de 5	0 de 5	4 de 20 (20)
1,25	(0,318) [0,2842]	4 de 5	4 de 5	4 de 5	4 de 5	16 de 20 (80)
2,5	(0,636) [0,5107]	4 de 5	5 de 5	3 de 5	5 de 5	17 de 20 (85)
5,0	(1,272) [0,7602]	5 de 5	4 de 5	5 de 5	4 de 5	18 de 20 (90)
10	(2,545) [1,4237]	4 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	19 de 20 (95)
20	(5,090)	5 de 5	5 de 5	5 de 5	5 de 5	20 de 20 (100)



En el análisis estadístico de los datos de mortalidad se utilizó el test SPEARMAN-KARBER (Anexo 1) para el cálculo de la CL_{50-7d} * para Cu^{2+} , obteniéndose un valor de 0,26 mg/L con un intervalo de confianza entre 0,21 y 0,34 mg/L.

* Es la concentración de ión Cu que provoca la mortalidad del 50 % de los bivalvos expuestos por un período de 7 días.



Las medidas de talla, peso y concentración de cobre en 5 individuos muestreados por tratamiento se presenta en el anexo 2.

Si se considera que la CL_{50-7d} calculada en base a concentraciones nominales de Cu^{2+} es un valor intermedio entre las concentraciones 0,159 y 0,318 mg/L y las concentraciones medidas analíticamente en esas soluciones fue un 22 y 89 % de las nominales respectivamente, una estimación de la CL_{50-7d} en términos de ión cobre efectivamente disuelto sería un 55 % (promedio entre 22 y 89) del valor nominal (0,28 mg/L), es decir 0,154 mg/L.

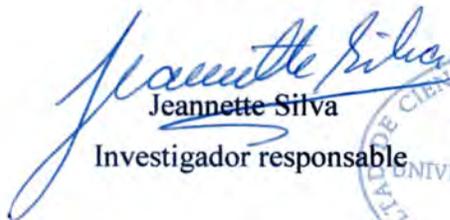


El Cu^{2+} acumulado en los tejidos blandos del chorito durante 7 días de exposición a un gradiente de concentración del ión muestra un aumento acorde con el incremento de la concentración en el agua pero solo en las concentraciones más bajas. Luego se estabiliza entre 11 y 13 $\mu g/g$ mientras la concentración en el agua sube de 34,8 a 510 mg/L. El cobre vuelve a aumentar en la carne del chorito a consecuencia del incremento del ión disuelto entre 760 y 1.423 mg/L.

La relación entre el cobre bioconcentrado y la mortalidad de los choritos es poco clara, en cambio la relación concentración en el agua – mortalidad sigue el patrón característico de elementos tóxicos disueltos en agua.

CONCLUSIÓN:

- La CL_{50-7d} nominal del Cu^{2+} para adultos de *M. chilensis* es 0,28 mg/L, con un intervalo de confianza entre 0,22 y 0,35 mg/L.
- La CL_{50-7d} del Cu^{2+} medido analíticamente en el agua sería 0,154 mg/L.
- La relación entre el Cu^{2+} acumulado en los choritos y la mortalidad es poco clara.


Jeannette Silva
Investigador responsable




Dr. Enrique Bay-Schmith B.
Director



Anexo 1: Análisis estadístico de los datos de mortalidad de *Mytilus chilensis* expuesto al ión Cu^{2+} . Cálculo de la $\text{CL}_{50-7\text{d}}$.

DATE: 20 enero TEST NUMBER: 4 DURATION: 7 d
TOXICANT : Cu
SPECIES: *Mytilus chilensis*



RAW DATA:	Concentration (mg/L)	Number Exposed	Mortalities
-----	.00	20	0
	.08	20	0
	.16	20	4
	.32	20	16
	.64	20	17
	1.27	20	18
	2.55	20	19
	5.09	20	20



SPEARMAN-KARBER TRIM: .00%

SPEARMAN-KARBER ESTIMATES: **LC50: .28**
95% LOWER CONFIDENCE: .22
95% UPPER CONFIDENCE: .35



Anexo 2. Medidas de talla y peso de 5 individuos muestreados por tratamiento y datos de la concentración analítica de cobre en el agua y en los choritos.



Concentración analítica de Cu ²⁺ en agua (µg/L)	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)	Concentración analítica de Cu ²⁺ en carne (µg/g)
3,6	Co-1	6,5	6,3	0,762
	Co-2	5,91	5,4	0,957
	Co-3	5,51	6,2	1,753
	Co-4	5,8	4,5	1,662
	Co-5	5,72	4,3	1,208
				Promedio: 1,268
11,2	C1-1	5,67	6,4	9,962
	C1-2	5,02	3,3	3,804
	C1-3	5,34	3,6	6,357
	C1-4	5,41	3,4	5,68
	C1-5	5,80	5,5	6,442
				Promedio: 6,449
18,8	C2-1	5,99	5,7	2,368
	C2-2	6,15	7,3	4,544
	C2-3	5,54	5,4	17,089
	C2-4	5,81	5,1	5,539
	C2-5	6,0	5,6	5,598
				Promedio: 7,028
34,8	C3-1	5,32	4,5	9,098
	C3-2	5,66	5,3	13,638
	C3-3	5,66	5,3	17,484
	C3-4	5,59	4,4	15,602
	C3-5	4,94	2,8	3,5
				Promedio: 11,864



284,2	C4-1	6,22	5,6	7,925
	C4-2	6,10	5,2	11,332
	C4-3	5,23	4,4	14,353
	C4-4	5,26	3,7	14,852
	C4-5	5,10	3,8	6,41
				Promedio: 10,974
510,7	C5-1	5,65	5,9	22,513
	C5-2	5,0	3,1	5,592
	C5-3	4,4	2,9	5,945
	C5-4	5,32	4,1	6,639
	C5-5	5,80	5,1	23,51
				Promedio: 12,840
760,2	C6-1	6,5	5,7 (m)	6,904
	C6-2	5,5	4,2	44,599
	C6-3	5,47	3,1	28,165
	C6-4	5,38	4,6	15,666
	C6-5	5,24	3,3 (m)	12,908
				Promedio: 21,648
1.423,7	C7-1	5,30	4,7 (m)	25,744
	C7-2	5,84	5,0 (m)	35,872
	C7-3	5,56	4,2 (m)	43,281
	C7-4	5,52	3,7 (m)	43,417
	C7-5	6,26	4,0 (m)	44,288
				Promedio: 38,520

LD: 0,210 (µg/g)



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2390

Fecha: 16 de marzo de 2016

SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Toxicidad aguda
ESPECIE	: <i>Mytilus chilensis</i> (chorito del sur, adultos y juveniles)
RESPUESTA MEDIDA	: Mortalidad.
FECHA INICIO BIOENSAYO	: 4 de marzo de 2016
TIEMPO DE EXPOSICION	: 7 días
COMPUESTOS EVALUADOS	: Sulfato de zinc ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$) + Sulfato de cobre ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$)



CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO

UNIDAD EXPERIMENTAL	: Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP.	: 3 L
NUMERO REPLICAS	: 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP.	: 5
TAMAÑO DE ADULTOS:	: 4,5 – 6 cm de largo
TAMAÑO DE JUVENILES	: 2,5 – 3,8 cm de largo
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 8 (Control y concentración NOEC individual de ambos compuestos y combinados, para adultos y juveniles)
MEDIO DE DILUCION	: Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD	: 34 ‰
OXIGENO DISUELTO	: Saturado por aireación continua
pH	: 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO	: 14 ± 1 °C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).

Se preparó una solución con ambos compuestos en una proporción 1:1 de las concentraciones correspondientes a los NOEC obtenidos de los bioensayos de toxicidad letal realizados anteriormente con cada una de las sales evaluadas. Las concentraciones preparadas fueron 5 mg/L para $ZnSO_4$ + 0,3 mg/L para $CuSO_4$ (peso de sal completa), las



cuales fueron disueltas previamente en 500 mL de agua de mar tibia mediante agitador magnético durante una hora, incorporándose luego al volumen total de agua de mar (24 L).



Se prepararon 8 set de unidades experimentales: Zn + Cu combinado con choritos adultos, Zn + Cu combinado para choritos juveniles, Zn (NOEC) con adultos y otro con juveniles, Cu (NOEC) con adultos y otro con juveniles y control adulto y control juvenil. Se distribuyó 5 choritos por unidad experimental de 3 L de solución con 4 réplicas por tratamiento. Los envases se mantuvieron con aireación continua en una cámara con temperatura controlada a 14 °C, con recambio del medio cada 48 h. En cada recambio se lavó el envase y se retiraron los bivalvos muertos. El efecto agudo se determinó contabilizando, al término del período de exposición (7 días), el número acumulado de organismos vivos o muertos en cada recipiente. En el análisis estadístico de la mortalidad se utilizó ANOVA seguido del test de TUKEY del paquete estadístico TOXSTAT.



RESULTADO:

El resultado del bioensayo agudo con adultos y juveniles de *Mytilus chilensis* expuestos a la combinación de ZnSO₄ + CuSO₄ en agua de mar a las respectivas concentraciones NOEC y de choritos expuestos a los metales individualmente y a su concentración NOEC se presenta en la tabla 1 para adultos y en la tabla 2 para juveniles.

Tabla 1: Número de ejemplares adultos muertos del bivalvo *Mytilus chilensis* al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales NOEC de Zn²⁺ y Cu²⁺ y a concentración NOEC individual de Zn²⁺ y concentración NOEC individual de Cu²⁺.

Concentración equivalente al NOEC de la sal completa (mg/L)	NOEC ión (mg/L)	Nº de muertos del Nº total de expuestos				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	--	0 de 5	1 de 5	0 de 5	1 de 5	2 de 20 (10 %)
(5) ZnSO ₄ (0,3) CuSO ₄	(1,13) Zn ²⁺ (0,079) Cu ²⁺	3 de 5	2 de 5	4 de 5	5 de 5	14 de 20 (70 %)
5 (ZnSO ₄)	(1,13) Zn ²⁺	2 de 5	2 de 5	3 de 5	0 de 5	7 de 20 (35 %)
0,3 (CuSO ₄)	(0,079) Cu ²⁺	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0 %)



Tabla 2: Número de ejemplares juveniles muertos del bivalvo *Mytilus chilensis* al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales NOEC de Zn^{2+} y Cu^{2+} y a concentración NOEC individual de Zn^{2+} y concentración NOEC individual de Cu^{2+} .



Concentración equivalente al NOEC de la sal completa (mg/L)	NOEC ión (mg/L)	Nº de muertos del Nº total de expuestos				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	--	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
(5) $ZnSO_4$ (0,3) $(CuSO_4)$	(1,13) Zn^{2+} (0,079) Cu^{2+}	5 de 5	5 de 5	4 de 5	3 de 5	17 de 20 (85)
5 $(ZnSO_4)$	(1,13) Zn^{2+}	4 de 5	2 de 5	2 de 5	2 de 5	10 de 20 (50 %)
0,3 $(CuSO_4)$	(0,079) Cu^{2+}	0 de 5	0 de 5	0 de 5	1 de 5	1 de 20 (5 %)

La mortalidad de choritos juveniles y adultos en agua control fue de 0 y 10 % respectivamente, aceptable para bioensayos con este molusco. Los ejemplares adultos del chorito tuvieron un 70 % de mortalidad al ser expuestos a la mezcla de metales Zn^{2+} + Cu^{2+} ; mortalidad significativamente más alta que la del control (anexo 1). La combinación Zn^{2+} + Cu^{2+} a sus respectivas concentraciones NOEC es significativamente más letal que la solución con solo el NOEC del Cu^{2+} (0 %). La mortalidad en la combinación de metales sin embargo, no se diferencia estadísticamente de la mortalidad de la solución con solo Zn^{2+} , la cual fue un poco más alta que en el control en este experimento (35 %) en tanto que en un bioensayo anterior esa misma concentración de Zn calificó como concentración sin efecto letal significativo. Esto puede ser indicio de ejemplares adultos con sensibilidad algo mayor a lo normal.

Con respecto a los juveniles, la solución NOEC de Zn^{2+} individual también tuvo un efecto letal (50 %) significativamente superior a la mortalidad del control en cambio la solución de Cu^{2+} no se diferencia del resultado del control (Anexo 2). Es posible que la concentración NOEC del Zn^{2+} esté más próxima a la concentración en que comienzan a verse afectados los choritos y el NOEC del Cu^{2+} está menos próximo a una concentración equivalente de este metal. Ante una sensibilidad un poco mayor a lo normal también en los juveniles, la respuesta letal surgiría primero en la exposición al Zn^{2+} y no necesariamente en la solución de Cu^{2+} .

La exposición de los juveniles a los metales combinados tuvo un efecto letal intenso con 85 % de muertos. Este valor es estadísticamente diferente a las mortalidades registradas en



las soluciones individuales de Zn^{2+} y la de Cu^{2+} (Anexo 2) de modo que la combinación de iones incrementa la letalidad de los choritos respecto de la letalidad de los iones individuales.

Las respuestas registradas en estos bioensayos pudieran estar influenciadas por el hecho que siendo una especie de mitilido del sur del país, adquirido en Chiloé y mantenido en sistema suspendido en Bahía Coliumo hasta su uso experimental, su condición fisiológica no haya sido la óptima dadas las condiciones oceanográficas este año con un evidente evento El Niño.



CONCLUSIÓN:

- La exposición simultánea a iones Zn^{2+} y Cu^{2+} en las concentraciones individuales sin efecto letal (NOEC) manifestó un efecto sinérgico sobre los choritos adultos con un 70 % de mortalidad y sobre choritos juveniles con un 85 % de muertos.



Jeannette Silva

Investigador responsable



Dr. Enrique Bay-Schmith B.

Director



Anexo 1: Análisis estadístico de los datos de mortalidad de *Mytilus chilensis* expuesto a $Zn^{2+} + Cu^{2+}$ y a ambos metales por separado Significancia de las diferencias.



Zn + Cu x Mortalidad

File: D:\STADIS~1\TOXSTAT\MOZCU.

Transform: NO TRANSFORM

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	29.188	9.729	10.860
Within (Error)	12	10.750	0.896	
Total	15	39.938		



Critical F value = 3.49 (0.05,3,12)

Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP
4	Cu	0.000	0.000	\
1	Control	0.500	0.500	. \
3	Zn	1.750	1.750	. . \
2	Zn+Cu	3.500	3.500	* * . \

* = significant difference (p=0.05)

. = no significant difference

Tukey value (4,12) = 4.20

s = 0.896



Anexo 2: Análisis estadístico de los datos de mortalidad de juveniles de *Mytilus chilensis* expuestos a $Zn^{2+} + Cu^{2+}$ y a ambos metales por separado Significancia de las diferencias



Zn+Cu x choritos chicos
 File: ChcZ Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	3	48.500	16.167	29.846
Within (Error)	12	6.500	0.542	
Total	15	55.000		



Critical F value = 3.49 (0.05,3,12)
 Since $F > \text{Critical F}$ REJECT H_0 : All equal

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP
1	Control	0.000	0.000	\
4	Cu	0.250	0.250	. \
3	Zn	2.500	2.500	* * \
2	Zn+Cu	4.250	4.250	* * * \

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Tukey value (4,12) = 4.20 s = 0.542



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/2366

Fecha: 24 de febrero de 2016



SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Toxicidad aguda
ESPECIE	: <i>Mytilus chilensis</i> (chorito del sur, juveniles)
RESPUESTA MEDIDA	: Mortalidad
FECHA INICIO BIOENSAYO	: 8 de enero de 2016
TIEMPO DE EXPOSICION	: 7 días
COMPUESTO EVALUADO	: Sulfato de zinc ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$) (Sigma-Aldrich)

CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO



UNIDAD EXPERIMENTAL	: Envase desechable de 4 L de capacidad
VOL. AGUA / UNIDAD EXP.	: 3 L
NUMERO REPLICAS	: 4
ORGANISMOS / UNIDAD EXP.	: 5
TAMAÑO CHORITO JUVENIL	: 2,5 – 3,8 cm
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 10 (Control y 9 concentraciones de $ZnSO_4$)
MEDIO DE DILUCION	: Agua de mar filtrada (Lenga)
SALINIDAD	: 34 ‰
OXIGENO DISUELTO	: Saturado por aireación continua
pH	: 8,0
TEMPERATURA DEL ENSAYO	: 14° C

RESUMEN DE LA METODOLOGIA DEL BIOENSAYO

Los choritos fueron adquiridos en Chiloé y mantenidos en un sistema suspendido en el mar de Bahía Coliumo, 8ª región. Una semana antes de usarlos se trasladaron al laboratorio para aclimatación en estanques de 40 L con alimentación diaria en base a una mezcla de microalgas (*Isochrysis galbana* y *Dunaliella tertiolecta*).

La solución de mayor concentración de sulfato de zinc se preparó por disolución de 7,2 g $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ en 500 mL de agua de mar tibia mediante agitador magnético durante una hora y luego se incorporó al volumen total de agua de mar (24 L). El gradiente de concentraciones se preparó con un factor de dilución de 0,5.

Se distribuyeron 5 juveniles de chorito (2,5 a 3,8 cm de largo) por unidad experimental de 3 L de solución con 4 réplicas por tratamiento. Los envases se mantuvieron con aireación continua en una cámara con una temperatura controlada a 14 ± 1 °C, con recambio del medio cada 48 h. En cada recambio se lavó el envase y se retiraron los bivalvos muertos.



El efecto letal se determinó contabilizando, al término del período de exposición, el número de choritos sobrevivientes y el acumulativo de muertos.

RESULTADO:



El resultado del bioensayo agudo con *Mytilus chilensis* juveniles expuestos a una serie de concentraciones de $ZnSO_4$ se presenta en la tabla 1.

Tabla 1: Número de ejemplares del bivalvo *Mytilus chilensis* muertos al ser expuestos por 7 días a concentraciones nominales () y concentraciones cuantificadas analíticamente del ión Zn^{+2} [] disuelto a partir de $ZnSO_4$.



ZnSO ₄ ·7 H ₂ O (mg/L)	Zn ⁺² (mg/L) (nominal) [analítica]	N° de muertos del N° total de expuestos				
		Réplica A	Réplica B	Réplica C	Réplica D	Total (%)
Control agua de mar	0	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
0,3	(0,07) [0,006]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
0,6	(0,14) [0,016]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
1,25	(0,28) [0,023]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (20)
2,5	(0,56) [0,037]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
5,0	(1,13) [0,299]	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 5	0 de 20 (0)
10	(2,27) [0,599]	1 de 5	0 de 5	1 de 5	0 de 5	2 de 20 (10)
20	(4,55) [1,252]	3 de 5	4 de 5	2 de 5	1 de 5	10 de 20 (50)
40	(9,10) [4,879]	2 de 5	0 de 5	4 de 5	5 de 5	11 de 20 (55)



80	(18,20) [~7,719]	3 de 5	4 de 5	4 de 5	3 de 5	14 de 20 (70)
----	---------------------	--------	--------	--------	--------	------------------

En el análisis estadístico de los datos de mortalidad se utilizó el test Probit (Anexo 1) para el cálculo de la CL_{50-7d} * del ión Zn^{2+} , obteniéndose un valor nominal de 7,79 mg/L con un intervalo de confianza entre 5,64 y 11,81 mg/L.



* Es la concentración de ión Zn que provoca la mortalidad del 50 % de los bivalvos expuestos por un período de 7 días.

Las medidas de talla, peso y concentración de cobre en 5 individuos muestreados por tratamiento se presenta en el anexo 2.

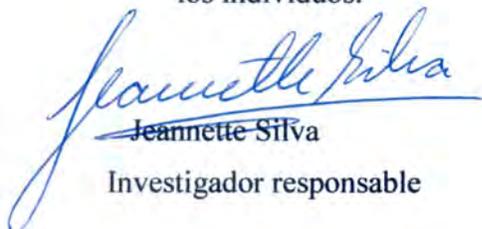


La CL_{50-7d} nominal del ión Zn^{2+} (7,79 mg/L) es un valor intermedio entre las concentraciones experimentales 4,55 y 9,1 mg/L. La cuantificación analítica de Zn^{2+} en ambas soluciones fue de 4,879 y 7,719 mg/L, valores bastante próximos a los nominales, por lo que puede estimarse que la CL_{50-7d} ajustada en base a las concentraciones efectivamente medidas debe ser muy similar a 7,79 mg/L.

El anexo 2 muestra que concentraciones de Zn^{2+} en la carne de hasta 116 $\mu\text{g/g}$, acumulado en exposición de 7 días, no es letal para el chorito. A partir de 122,6 $\mu\text{g/g}$ comienzan a morir y llegan a un 70 % de mortalidad con 231,8 $\mu\text{g/g}$ de Zn^{2+} en la carne.

CONCLUSIÓN:

- La CL_{50-7d} nominal del Zn^{2+} disuelto para juveniles de *M. chilensis* es 7,79 mg/L, con un intervalo de confianza entre 5,64 y 11,81 mg/L.
- Concentraciones de Zn^{2+} hasta 116 $\mu\text{g/g}$ en la carne del chorito no es letal en 7 días de exposición. Con 231,8 $\mu\text{g/g}$ bioacumulado la mortalidad alcanza a un 70 % de los individuos.


Jeannette Silva
Investigador responsable


Dr. Enrique Bay-Schmith B.
Director



Anexo 1. Análisis estadístico de los datos de mortalidad de *Mytilus chilensis* expuesto a Zn^{+2} . Cálculo de la CL_{50-7d} .

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



Agudo *Mytilus chilensis*/Zinc

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls	Predicted Proportion Responding
1.1300	20	0	0.0000	0.0000	0.0435
2.2700	20	2	0.1000	0.1000	0.1373
4.5500	20	10	0.5000	0.5000	0.3170
9.1000	20	11	0.5500	0.5500	0.5550
18.2000	20	14	0.7000	0.7000	0.7742



Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 4.872
 Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 7.815

Mu = 0.891299 Sigma = 0.489854

Parameter	Estimate	Std. Err.	95% Confidence Limits	
Intercept	3.180479	0.332602	(2.528578,	3.832379)
Slope	2.041427	0.389894	(1.277235,	2.805619)

Theoretical Spontaneous Response Rate = 0.0000

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.565	0.132	1.131
LC/EC 5.00	1.218	0.438	2.029
LC/EC 10.00	1.834	0.823	2.803
LC/EC 15.00	2.419	1.248	3.517
LC/EC 50.00	7.786	5.637	11.810
LC/EC 85.00	25.060	15.416	65.487
LC/EC 90.00	33.044	19.095	100.591
LC/EC 95.00	49.780	26.081	191.027
LC/EC 99.00	107.361	46.355	642.230



Anexo 2. Medidas de talla y peso de 5 individuos muestreados por tratamiento y datos de la concentración analítica de zinc en el agua y en los choritos.



Concentración analítica de Zn ²⁺ en agua (mg/L)	Código muestra	Talla (cm)	Peso (grs)	Concentración analítica en la carne (µg/g)
0,006	Co-1	3,44	1,1	13,57
	Co-2	3,27	1,4	2,17
	Co-3	3,39	1,4	8,14
	Co-4	3,32	1,1	39,7
	Co-5	3,42	1,3	3,34
				Promedio: 6,24
0,016	C1-1	3,31	1,1	112,7
	C1-2	3,6	1,5	105,6
	C1-3	3,45	1,0	169,2
	C1-4	3,21	1,0	102,6
	C1-5	3,04	0,7	91,1
				Promedio: 116,2
0,023	C2-1	3,28	0,9	134,0
	C2-2	3,79	1,8	123,1
	C2-3	3,54	1,3	97,2
	C2-4	3,28	1,4	127,9
	C2-5	3,57	1,4	56,4
				Promedio: 107,7
0,037	C3-1	3,66	2,0	86,0
	C3-2	3,65	1,4	84,4
	C3-3	3,4	1,6	61,4
	C3-4	3,49	1,7	42,3
	C3-5	3,46	1,4	36,2
				Promedio: 62,1



0,299	C4-1	3,76	1,6	85,3
	C4-2	3,66	1,4	116,7
	C4-3	3,54	1,4	118,7
	C4-4	3,54	1,9	41,2
	C4-5	3,5	1,3	44,0
				Promedio: 81,2
0,599	C5-1	3,53	1,6	77,9
	C5-2	3,36	1,2	76,6
	C5-3	3,64	1,4	125,5
	C5-4	3,64	1,6	115,1
	C5-5	3,45	1,3	87,6
				Promedio: 96,5
1,252	C6-1	3,34	1,2	138,0
	C6-2	3,54	1,0	73,4
	C6-3	3,33	1,0	124,2
	C6-4	3,49	1,3	112,8
	C6-5	3,42	0,9	164,8
				Promedio: 122,6
4,879	C7-1	3,8	1,5	127,5
	C7-2	3,35	1,1	173,2
	C7-3	3,36	1,9	106,9
	C7-4	3,58	1,2	214,5
	C7-5	3,86	1,5	151,0
				Promedio: 154,6
~7,719	C8-1	3,74	1,7	110,1
	C8-2	3,44	0,8	217,7
	C8-3	3,5	1,3	194,5
	C8-4	3,81	1,6	172,1
	C8-5	3,64	1,2	140,7
				Promedio: 167,0



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/ 2280

Fecha: 29 de febrero de 2016



SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Crónico
ESPECIE	: <i>Macrocystis pyrifera</i>
RESPUESTA MEDIDA	: Germinación de esporas
FECHA INICIO BIOENSAYOS	: 11 de diciembre de 2015
TIEMPO DE EXPOSICION	: 5 días
TÓXICO EVALUADO	: CuSO ₄ , en agua de mar
FUENTE DEL TÓXICO	: CuSO ₄ . 5H ₂ O pro-análisis (Riedel-deHaën)



CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO

VOLUMEN / UNIDAD EXP.	: 200 mL
NUMERO REPLICAS	: 3
INÓCULO DE ESPORAS	: 1 mL por réplica
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 5 (control, y 4 concentraciones de Cu SO ₄)
TEMPERATURA DE EXPOSICIÓN	: 14° C
SALINIDAD AGUA DE MAR	: 34 ‰
PH MAYOR CONCENTRACIÓN	: 8,3
FOTOPERIODO	: 16 horas luz/8 horas osCuridad

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

Frondas reproductivas de *Macrocystis pyrifera* (Huiro) se obtuvieron del submareal de caleta Tumbes, Bahía de Concepción. Después de una hora de deshidratación a 14 °C se rehidrataron distribuidas en una capa sobre una rejilla que las separaba a 4 cm del fondo de una caja plástica con 2 L de agua de mar (34 ‰) agitada por burbujeo de aire. Dieciocho horas después de la inmersión, las frondas habían liberado abundantes esporas.

La evaluación del efecto del cobre sobre la germinación de las esporas de *M. pyrifera* se realizó por exposición de las zoosporas a un gradiente de concentración de CuSO₄ disuelto en agua de mar. Un mL del agua con zoosporas se inoculó en cada recipiente con 200 mL de las soluciones de Cu que contenían un portaobjetos de vidrio para adherencia de las esporas. Transcurridos 5 días desde el ingreso de las esporas se efectuó la medición en 20 esporas por réplica de la longitud del tubo de germinación que da origen al gametofito.

Este protocolo está basado en Anderson, B.S y J.W. Hunt. 1989. Bioassay methods for evaluating the toxicity of heavy metals, biocides and sewage effluents using *Macrocystis pyrifera* (Agardh): a preliminary report. Marine Environ. Res. 26: 133-134.



RESULTADOS:

El resultado del bioensayo crónico exponiendo las esporas a un rango de concentraciones de ión cobre entre 0,038 y 10,18 mg/L no reveló efecto inhibitorio de la tasa de germinación. Todos los portaobjetos examinados tenían abundantes esporas germinadas, sin embargo el tubo de germinación era progresivamente más corto con el incremento de la concentración de cobre (tabla 1).



Tabla 1. Efecto del Cu en la germinación de la espora de *M. pyrifera*. Longitud del tubo de germinación a los 5 días. Concentración nominal de ión Cu () y cuantificada analíticamente como Cu²⁺ disuelto en el agua de mar [].

Cu ²⁺ (mg/L) (nominal) [analítica]	Longitud del tubo de germinación (µm).								
	Réplica 1		Réplica 2		Réplica 3		Réplica 4		Promedio
	Prom	DE	Prom	DE	Prom	DE	Prom	DE	
Control agua de mar [0,0036]	11,3	1,4	11,0	2,2	11,1	1,5	11,2	1,6	11,15
(0,038) [0,011]	11,3	1,9	10,8	1,8	11,3	1,4	11,0	1,4	11,1
(0,079) [0,019]	10,3	1,4	10,6	1,2	10,5	1,4	10,8	1,0	10,55 *
(0,159) [0,035]	10,0	1,3	10,3	1,2	10,4	1,3	10,6	1,2	10,33 *
(0,318) [0,284]	10,1	1,3	10,1	1,5	10,0	1,4	10,4	1,3	10,15 *
(0,636 [0,511]	9,3	1,3	9,8	1,3	9,4	1,3	9,4	0,9	9,48 *
(1,272) [0,760]	8,2	1,2	8,1	1,2	8,4	1,2	8,2	1,4	8,23 *
(2,545) [1,424]	8,0	1,6	7,9	1,2	7,8	1,3	8,1	1,4	7,95 *
(5,09)	8,1	1,9	7,7	1,5	7,8	1,4	7,8	1,5	7,86 *
(10,18)	8,1	1,6	7,4	1,5	8,1	1,5	8,2	1,6	7,95 *

*Estadísticamente diferente al control.

La longitud promedio del tubo de germinación en la solución nominal de 0,038 mg/L de Cu²⁺ no se diferencia de la longitud alcanzada en el agua control (valor NOEC), en cambio las soluciones a partir de 0,079 mg/L (nominal) (valor LOEC) hacia arriba inducen un progresivo acortamiento del tubo de germinación, estadísticamente significativo (p < 0,05) respecto al control (Anexo 1). Además en las concentraciones más altas el color de los cloroplastos se torna prácticamente incoloro.



El esporofito de *M. pyrifera* se genera por fecundación de la célula huevo, fija al gametofito femenino. El efecto de la exposición al ión cobre sobre el desarrollo del esporofito se controló 34 días después de la germinación de las esporas. El agua control y las soluciones de Cu^{2+} hasta la concentración nominal de 0,159 mg/L (0,035 mg/L cuantificado analíticamente) desarrollaron esporofitos. Los gametofitos, aunque muy esporádicos, aún se visualizan en la concentración nominal de 0,636 mg/L de Cu^{2+} (0,511 mg/L analítico) pero sin esporofitos. Concentraciones de Cu^{2+} superiores a esta última carecen incluso de gametofitos.



CONCLUSION:

- La germinación de la espora en *M. pyrifera* se manifiesta por el desarrollo de una proyección tubular que dará origen al gametofito.
- El largo del tubo de germinación se reduce gradualmente con el incremento de la concentración de ión cobre en exposiciones de 5 días.
- A partir de una concentración nominal de ión Cu^{2+} disuelto de 0,079 mg/L (0,019 mg/L analítica) se manifiesta un efecto inhibitor de la longitud del tubo de germinación estadísticamente significativo.
NOEC= 0,038 mg/L LOEC= 0,079 mg/L
- Los cloroplastos del gametofito en desarrollo pierden su color en concentraciones reales de Cu^{2+} sobre 1,4 mg/L.
- El esporofito se desarrolla en soluciones de Cu^{2+} no superiores a 0,159 mg/L (nominales) o a 0,035 mg/L (determinado analíticamente).



Jeannette Silva
Investigador Responsable



Dr. Enrique Bay-Schmith
Director



Anexo 1. Análisis estadístico de la longitud del tubo de germinación entre control y tratamientos. Significancia de las diferencias.

Macrocystis x CuSO4 File: MacCg Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	9	66.537	7.393	160.427
Within (Error)	30	1.382	0.046	
Total	39	67.920		

Critical F value = 2.21 (0.05,9,30)
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	Cont	11.150	11.150		
2	0,038	11.100	11.100	0.329	
3	0,079	10.550	10.550	3.953	*
4	0,159	10.325	10.325	5.435	*
5	0,318	10.150	10.150	6.588	*
6	0,636	9.475	9.475	11.035	*
7	1,272	8.225	8.225	19.269	*
8	2,545	7.950	7.950	21.081	*
9	5,09	7.850	7.850	21.740	*
10	10,18	7.950	7.950	21.081	*

Dunnett table value = 2.86 (2 Tailed Value, P=0.05, df=22,9)

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	4			
2	0,038	4	0.434	3.9	0.050
3	0,079	4	0.434	3.9	0.600
4	0,159	4	0.434	3.9	0.825
5	0,318	4	0.434	3.9	1.000
6	0,636	4	0.434	3.9	1.675
7	1,272	4	0.434	3.9	2.925
8	2,545	4	0.434	3.9	3.200
9	5,09	4	0.434	3.9	3.300
10	10,18	4	0.434	3.9	3.200



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/ 2350

Fecha: 29 de febrero de 2016



SOLICITADO POR	: IFOP
TIPO DE BIOENSAYO	: Crónico
ESPECIE	: <i>Macrocystis pyrifera</i>
RESPUESTA MEDIDA	: Germinación de esporas
FECHA INICIO BIOENSAYOS	: 14 de enero de 2015
TIEMPO DE EXPOSICION	: 5 días
TÓXICO EVALUADO	: ZnSO ₄ en agua de mar
FUENTE DEL TÓXICO	: ZnSO ₄ .7 H ₂ O pro-análisis (Sigma-Aldrich)



CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO

VOLUMEN / UNIDAD EXP.	: 200 mL
NUMERO REPLICAS	: 3
INÓCULO DE ESPORAS	: 1 mL por réplica
NUMERO DE TRATAMIENTOS	: 12 (control, y 11 concentraciones de ZnSO ₄)
TEMPERATURA DE EXPOSICIÓN	: 14° C
SALINIDAD AGUA DE MAR	: 34 ‰
PH MAYOR CONCENTRACIÓN	: 8,3
FOTOPERIODO	: 16 horas luz/8 horas oscuridad

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

Frondas reproductivas de *Macrocystis pyrifera* (Huiro) se obtuvieron del submareal de caleta Tumbes, Bahía de Concepción. Después de una hora de deshidratación a 14 °C se rehidrataron distribuidas en una capa sobre una rejilla que las separaba a 4 cm del fondo de una caja plástica con 2 L de agua de mar (34 ‰) agitada por burbujeo de aire. Dieciocho horas después de la inmersión, las frondas habían liberado abundantes esporas. La evaluación del efecto del zinc sobre la germinación de las esporas de *M. pyrifera* se realizó por exposición de las zoosporas a un gradiente de concentración de ZnSO₄ disuelto en agua de mar. Un mL del agua con zoosporas se inoculó en cada recipiente con 200 mL de las soluciones de Zn que contenían un portaobjetos de vidrio para adherencia de las esporas. Transcurridos 5 días desde el ingreso de las esporas se efectuó el recuento de esporas germinadas, es decir con proyección del tubo de germinación. El área de recuento fue en el ancho del campo visual con objetivo 40 x a lo largo de 18 mm, la longitud del cubre-objeto montado sobre el portaobjeto con esporas. En algunos tratamientos el recuento se complementó con la medición de la longitud del tubo de germinación (embrión del gametofito) que desarrollan las esporas fijadas al portaobjeto, dado que es una respuesta a tóxicos más sensible que la frecuencia de germinación de las esporas.



Este protocolo está basado en Anderson, B.S y J.W. Hunt. 1989. Bioassay methods for evaluating the toxicity of heavy metals, biocides and sewage effluents using *Macrocystis pyrifera* (Agardh): a preliminary report. Marine Environ. Res. 26: 133-134.



RESULTADOS:

El efecto sobre la germinación de las zoosporas de *M. pyrifera* por exposición a un rango de concentraciones de zinc se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Efecto del ión zinc en la germinación de la espora de *M. pyrifera*. Recuento de esporas germinadas por sección de área del portaobjeto. Concentración nominal de ión Zn^{2+} () y cuantificada analíticamente como Zn^{2+} disuelto en el agua de mar [].



Conc. $ZnSO_4 \times 7 H_2O$ (mg/L)	Zn^{2+} (mg/L) (nominal) [analítica]	Nº de esporas germinadas				
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Promedio
Control agua de mar	0 [0,006]	116	94	87	92	97,3
0,3	(0,07) [0,016]	65	92	72	102	82,8
0,6	(0,14) [0,023]	123	116	81	95	103,8
1,25	(0,28) [0,037]	106	82	79	93	90
2,5	(0,56) [0,299]	90	75	98	86	87,3
5,0	(1,13) [0,599]	82	90	103	110	96,3
10	(2,27) [1,252]	86	84	105	83	89,5
20	(4,55) [4,879]	95	77	99	80	87,8
40	(9,1) [~7,719]	101	88	94	86	92,3
80	(18,2) [20,316]	102	78	84	82	86,5



160	(36,4) [~40]	34	50	28	33	36,3 *
320	(72,8) [~80]	2	0	3	0	1,25 *

*Estadísticamente diferente al control.



La exposición a ión Zn^{2+} no tuvo efecto inhibitor estadísticamente significativo sobre la germinación de las esporas de *M. pyriferá* hasta una concentración nominal de 18 mg/L (Anexo 1). Con 36,4 mg/L la germinación disminuyó a un 37 % de lo registrado en el control. Las concentraciones NOEC y LOEC para este efecto son 18,2 y 36,4 mg/L respectivamente.

La longitud del tubo de germinación fue medida en los portaobjetos con esporas adheridas y se encontró un efecto inhibitor de la elongación en función del incremento de la concentración del ión zinc disuelto en el agua (Tabla 2).



Tabla 2. Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a $ZnSO_4$.

Zn^{2+} (mg/L) (nominal) [analítica]	Longitud del tubo de germinación (μm). $\bar{X} \pm DE$. N=10				
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Promedio
Control (0) [0,006]	14,5 \pm 1,4	13,4 \pm 2,2	14,6 \pm 2,9	13,2 \pm 2,8	13,9
(0,56) [0,299]	14,3 \pm 2,7	13,8 \pm 2,3	14,6 \pm 1,4	14,6 \pm 2,2	14,3
(1,13) [0,599]	13,0 \pm 2,9	13,6 \pm 1,9	13,4 \pm 2,2	13,8 \pm 2,2	13,4
(2,27) [1,252]	10,7 \pm 2,9	11,8 \pm 1,6	11,6 \pm 1,6	11,3 \pm 1,9	11,3 *
(4,55) [4,879]	9,1 \pm 1,7	9,5 \pm 2,2	9,8 \pm 1,7	9,6 \pm 1,6	9,5 *
(9,1) [~7,719]	7,1 \pm 1,3	8,0 \pm 1,7	7,2 \pm 1,4	7,6 \pm 1,7	7,5 *
(18,2) [20,316]	7,3 \pm 2,0	6,9 \pm 1,3	7,2 \pm 1,8	6,7 \pm 1,2	7,0 *

*Estadísticamente diferente al control.

La longitud promedio del tubo de germinación en el agua control (13,9 μm) es estadísticamente distinta a la longitud registrada en los tratamientos con Zn^{2+} a partir de 2,27 mg/L del ión (Anexo 2).



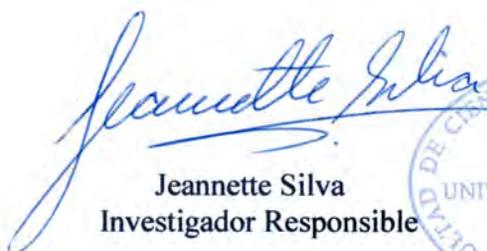
El esporofito de *M. pyrifera* se genera por fecundación de la célula huevo, fija al gametofito femenino. El efecto de la exposición al Zn sobre el desarrollo del esporofito se controló 40 días después de la germinación de las esporas. El agua control y las soluciones de Zn^{2+} hasta la concentración nominal de 0,56 mg/L (0,299 mg/L cuantificado analíticamente) desarrollaron esporofitos. Los gametofitos están presentes hasta la concentración de 2,27 mg/L de Zn^{2+} pero sin esporofitos. Concentraciones de Zn^{2+} de 4,55 mg/L (4,88 mg/L analítico) y superiores carecen incluso de gametofitos.



CONCLUSION:

- La germinación de la espora en *M. pyrifera* se manifiesta por el asentamiento de la espora flagelada, su adherencia al sustrato y desarrollo de una proyección tubular que dará origen al gametofito.
- La inhibición de la germinación de la zoospora sólo ocurre en las concentraciones superiores del rango evaluado de Zn^{2+} . El NOEC y LOEC nominales del Zn^{2+} son:
NOEC: 18,2 mg/L LOEC: 36,4 mg/L
- El largo del tubo de germinación se reduce gradualmente con el incremento de la concentración nominal de Zn^{2+} .
NOEC: 1,13 mg/L LOEC: 2,27 mg/L
- El esporofito se desarrollan normalmente en soluciones nominales de Zn^{2+} no superiores a 0,56 mg/L.




Jeannette Silva
Investigador Responsable




Dr. Enrique Bay-Schmith
Director



Anexo 1. Análisis estadístico de la frecuencia de germinación entre control y tratamientos. Significancia de las diferencias.

Germinacion x Zinc File: MacGzn Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	9	34693.525	3854.836	32.657
Within (Error)	30	3541.250	118.042	
Total	39	38234.775		

Critical F value = 2.21 (0.05,9,30)
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	97.250	97.250		
2	0.07	82.750	82.750	1.887	
3	0.28	90.000	90.000	0.944	
4	0.56	87.250	87.250	1.302	
5	2.27	89.500	89.500	1.009	
6	4.55	87.750	87.750	1.237	
7	9.1	92.250	92.250	0.651	
8	18.2	86.500	86.500	1.399	
9	36.4	36.250	36.250	7.940	*
10	72.8	1.250	1.250	12.496	*

Dunnett table value = 2.86 (2 Tailed Value, P=0.05, df=22,9)

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

DIFFERENCE GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	% of FROM CONTROL
1	Control	4			
2	0.07	4	21.972	22.6	14.500
3	0.28	4	21.972	22.6	7.250
4	0.56	4	21.972	22.6	10.000
5	2.27	4	21.972	22.6	7.750
6	4.55	4	21.972	22.6	9.500
7	9.1	4	21.972	22.6	5.000
8	18.2	4	21.972	22.6	10.750
9	36.4	4	21.972	22.6	61.000
10	72.8	4	21.972	22.6	96.000



Anexo 2. Análisis estadístico de la longitud del tubo de germinación en presencia de Zn^{2+} .
Significancia de la diferencia entre control y tratamientos.

LonTz

File: macltz

Transform: NO TRANSFORMATION

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	6	224.849	37.475	194.314
Within (Error)	21	4.050	0.193	
Total	27	228.899		

Critical F value = 2.57 (0.05,6,21)
Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal



DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 H_0 :Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Control	13.925	13.925		
2	0.56	14.325	14.325	-1.288	
3	1.13	13.450	13.450	1.530	
4	2.27	11.350	11.350	8.292	*
5	4.55	9.500	9.500	14.250	*
6	9.1	7.475	7.475	20.771	*
7	18.2	7.025	7.025	22.220	*

Dunnett table value = 2.80 (2 Tailed Value, $P=0.05$, $df=20,6$)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 H_0 :Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Control	4			
2	0.56	4	0.869	6.2	-0.400
3	1.13	4	0.869	6.2	0.475
4	2.27	4	0.869	6.2	2.575
5	4.55	4	0.869	6.2	4.425
6	9.1	4	0.869	6.2	6.450
7	18.2	4	0.869	6.2	6.900



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/ 2252

Fecha: 18 de diciembre de 2015

CODIGO DE LAS MUESTRAS : LB-BIOE-R-02/2115
SOLICITADO POR : IFOP
TIPO DE BIOENSAYO : Crónico
ESPECIE : *Macrocystis pyrifera*
RESPUESTA MEDIDA : Germinación de esporas
FECHA INICIO BIOENSAYOS : 11 de diciembre de 2015
TIEMPO DE EXPOSICION : 5 días
TÓXICO EVALUADO : ZnO (polvo) en agua de mar
FUENTE DEL TÓXICO : ZnO pro-análisis (Sigma-Aldrich)



CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO

VOLUMEN / UNIDAD EXP. : 200 mL
NUMERO REPLICAS : 3
INÓCULO DE ESPORAS : 1 mL por réplica
NUMERO DE TRATAMIENTOS : 5 (control, y 4 concentraciones de ZnO)
TEMPERATURA DE EXPOSICIÓN : 14° C
SALINIDAD AGUA DE MAR : 34 ‰
PH MAYOR CONCENTRACIÓN : 8,3
FOTOPERIODO : 16 horas luz/8 horas oscuridad

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

Frondas reproductivas de *Macrocystis pyrifera* (Huiro) se obtuvieron del submareal de caleta Tumbes, Bahía de Concepción. Después de una hora de deshidratación a 14 °C se rehidrataron distribuidas en una capa sobre una rejilla que las separaba a 4 cm del fondo de una caja plástica con 2 L de agua de mar (34 ‰) agitada por burbujeo de aire. Dieciocho horas después de la inmersión, las frondas habían liberado abundantes esporas. La evaluación del efecto del zinc sobre la germinación de las esporas de *M. pyrifera* se realizó por exposición de las zoosporas a un gradiente de concentración de ZnO disuelto en agua de mar. Un mL del agua con zoosporas se inoculó en cada recipiente con 200 mL de las soluciones de Zn que contenían un portaobjetos de vidrio para adherencia de las esporas. Transcurridos 5 días desde el ingreso de las esporas se efectuó el recuento de esporas germinadas de aspecto normal y de aspecto anormal. El área de recuento fue en el ancho del campo visual con objetivo 40 x a lo largo de 18 mm, la longitud del cubreobjeto montado sobre el portaobjeto con esporas. En algunos tratamientos el recuento se



complementó con la medición de la longitud del tubo de germinación (embrión del gametofito) que desarrollan las esporas fijadas al portaobjeto, para discernir con mayor precisión el efecto de la exposición al zinc.

Este protocolo está basado en Anderson, B.S y J.W. Hunt. 1989. Bioassay methods for evaluating the toxicity of heavy metals, biocides and sewage effluents using *Macrocystis pyrifera* (Agardh): a preliminary report. Marine Environ. Res. 26: 133-134.



RESULTADOS:

El resultado del bioensayo crónico exponiendo las esporas a distintas concentraciones de zinc se presenta en la tabla 1. Se distinguió una forma normal de germinación con tubo de germinación transparente y el gametofito en su extremo muestra claramente los cloroplastos verde-amarillentos (foto 1 y 2), respecto de otra anormal, carente de tubo de germinación o en algunos casos espора germinada pero algo descolorida, azul verdosa (foto 3).

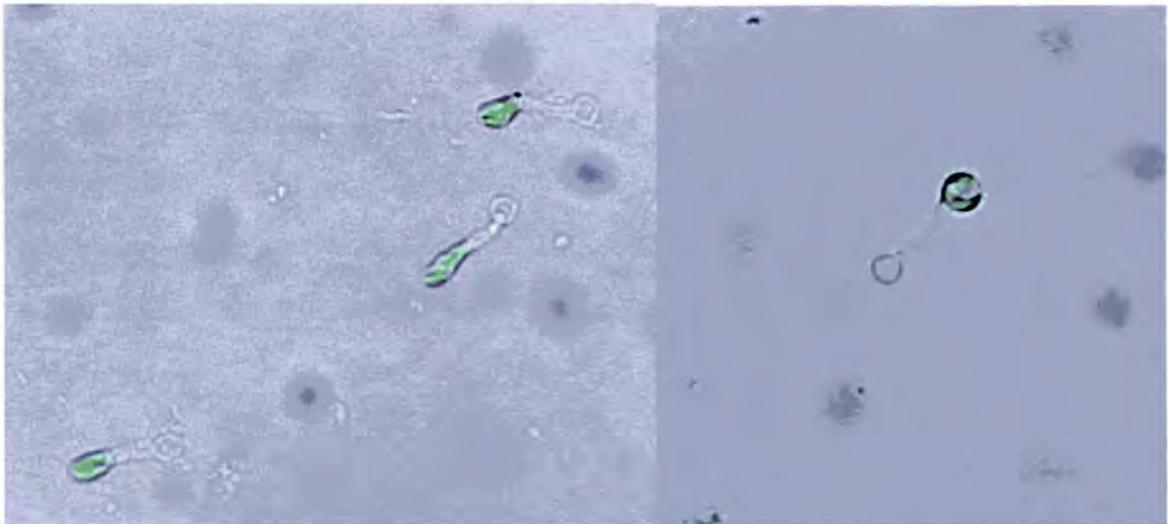


Foto 1. Esporas germinadas en agua control, de aspecto normal, característico de *Macrocystis pyrifera*. Largo promedio de la estructura: 13,7 μm .

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
Y OCEANOGRÁFICAS



Foto 2. Esporas germinadas en agua con Zn con tubo de germinación corto, consideradas normales.

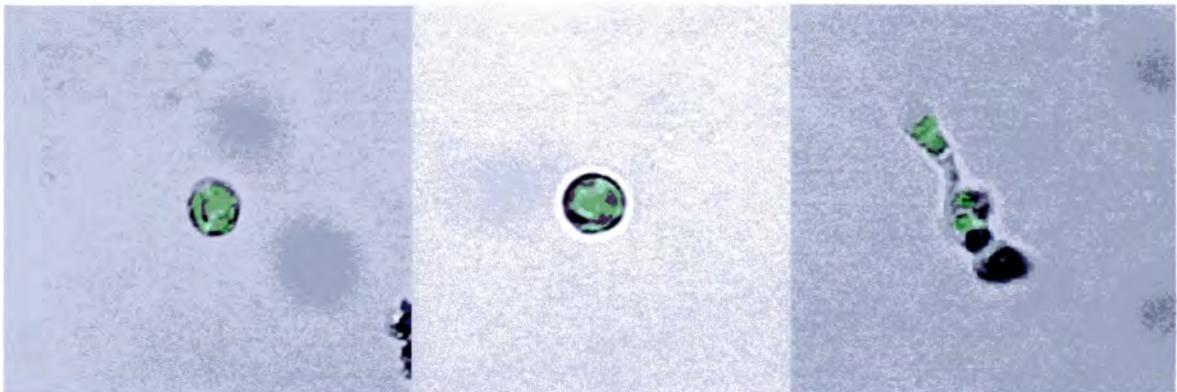


Foto 3. Esporas germinadas en agua con zinc, consideradas anormales, carentes de tubo de germinación las dos a la izquierda y de color desteñido, la derecha.

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
Y OCEANOGRÁFICAS



Tabla 1. Efecto del zinc en la germinación de la espora de *M. pyrifer*. Recuento de esporas con germinación normal (N) o anormal (A). Concentración nominal de ión Zn^{2+} () y cuantificada analíticamente como Zn^{2+} disuelto en el agua de mar [].

Zn^{2+} (mg/L) (nominal) [disuelto]	Nº de esporas germinadas normales y anormales								Total (%) Anormales
	Réplica 1		Réplica 2		Réplica 3		Réplica 4		
	N	A	N	A	N	A	N	A	
Control agua de mar [0,017]	68	0	72	0	65	0	79	0	0
(0,386) [2,210]	85	0	89	0	77	0	78	0	0
(0,783) [1,430]	47	2	41	3	53	2	49	4	5
(1,57) [2,820]	89	11	81	8	78	10	84	7	9,8
(3,13) [3,101]	90	25	83	18	79	20	86	16	18,9 *
(6,26) [2,840]	77	14	81	17	74	15	85	19	20,5 *
(12,53) [2,710]	66	13	62	12	72	18	63	18	31,7 *
(25,11) [2,990]	45	17	55	15	60	19	48	13	23,5 *
(50,22) [2,960]	83	19	76	16	88	21	91	24	19,1 *
(100,42) [2,830]	74	16	69	14	82	18	76	13	16,8 *
(200,85) [3,330]	192	35	165	27	183	30	169	21	13,7 *
(401,7) [2,820]	28	31	21	29	32	35	26	30	53,9 *

*Estadísticamente diferente al control.

Ninguna de las concentraciones de zinc evaluadas inhibió completamente la germinación. Las germinaciones anormales comienzan a registrarse desde la concentración nominal 0,783 mg/L de Zn^{2+} pero no son significativamente superiores al control hasta 3,13 mg/L de Zn^{2+} (Anexo 1). La proporción de anormales se estabiliza en las concentraciones superiores, entre 13,7 y 31,7 %, para subir a 53,9 % en la última concentración, de 401,7 mg/L nominales de Zn^{2+} . La concentración nominal más baja, 0,386 mg/L de Zn^{2+} , no presenta anomalías, sin embargo la concentración de ión disuelto que tiene es similar a las soluciones nominales superiores de Zn^{2+} .

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
Y OCEANOGRÁFICAS



El contraste de las concentraciones nominales de Zn^{2+} respecto a las cuantificadas analíticamente, lo cual fue planteado en el informe 2250 sobre chorito expuesto al Zn^{2+} , es válido también para este bioensayo. El aumento de las concentraciones nominales no se refleja en un incremento proporcional de la proporción de anomalía en la germinación. La saturación de la disolución del ZnO en agua de mar entre 2 y 3 mg/L de Zn^{2+} probablemente es la razón de la respuesta observada y que a esa concentración efectiva de ión Zn^{2+} disuelto no se manifiestan efectos más graves en la germinación de las esporas. El aumento de la anomalía a un 53,9 % en la concentración nominal superior (401,7 mg/L) no se explica por el nivel de ión Zn^{2+} disuelto, de modo que podría ser efecto del exceso de grumos de ZnO dispersos entre las esporas en germinación.

Si bien la proporción de formas anormales de germinación no se diferencia significativamente entre el control y las concentraciones nominales más bajas de Zn^{2+} , se pudo apreciar en el examen al microscopio que la longitud del tubo de germinación disminuía con el incremento de la concentración. La tabla 2 muestra mediciones de ese parámetro en el control y las tres primeras concentraciones de Zn^{2+} .

Tabla 2. Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a ZnO.

Zn ²⁺ (mg/L) (nominal) [disuelto]	Longitud del tubo de germinación (µm). $\bar{X} \pm DE$. N=10				
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Promedio
Control agua de mar [0,017]	14,7 ± 1,4	13,05 ± 1,1	13,65 ± 1,8	13,6 ± 2,0	13,7
(0,386) [2,210]	11,3 ± 1,5	11,0 ± 1,4	10,8 ± 1,2	10,9 ± 1,3	11,0 *
(1,57) [2,820]	10,2 ± 2,4	10,3 ± 2,4	9,9 ± 1,8	10,9 ± 1,3	10,3 *
(3,13) [3,101]	9,6 ± 2,1	9,2 ± 1,9	9,2 ± 2,3	8,9 ± 1,9	9,2 *

*Estadísticamente diferente al control.

La longitud promedio del tubo de germinación del control (13,7 µm) es estadísticamente distinta a la longitud lograda en los tratamientos con ZnO (Test de Student, $p < 0,001$). A partir de la menor concentración nominal evaluada (0,386 mg/L de Zn^{2+}) se observa una tendencia al acortamiento del tubo de germinación. La condición extrema, sin detección visual de esta estructura, está cuantificada en la tabla 1 en el porcentaje de germinaciones anormales de cada tratamiento.

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
Y OCEANOGRAFICAS

CONCLUSION:



- La germinación de la espora en *M. pyrifer* se manifiesta por el desarrollo de una proyección tubular que dará origen al gametofito. Al cuantificar la aparente germinación sin desarrollo de tubo de germinación se constata que este efecto se manifiesta en proporción significativamente superior al control desde la concentración nominal de 3,13 mg/L de Zn^{2+} .
- La baja disolución del ZnO generó concentraciones uniformes de ión Zn^{2+} disuelto en todo el rango de tratamientos evaluado.
- El largo del tubo de germinación se reduce gradualmente con el incremento de la concentración nominal de Zn^{2+} .
- La concentración efectiva de ión Zn^{2+} disuelto entre 2 y 3 mg/L, concentración de saturación, no induce la manifestación de síntomas letales en el gametofito en una exposición de 5 días.



Jeannette Silva
Jeannette Silva
Investigador Responsable



Dr. Enrique Bay-Schmith
Dr. Enrique Bay-Schmith
Director

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
Y OCEANOGRAFICAS

Anexo 1. Análisis estadístico de la proporción de anomalía en la germinación entre control y tratamientos. Significancia de las diferencias.



Espora

File: D:\STADIS~1\TOXSTAT\ESPZN.

Transform: NO TRANSFORMATION

KRUSKAL - WALLIS' ANOVA BY RANKS - TABLE 1 OF 2

(p=0.05)



GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM
1	Cont	0.000	0.000	10.000
2	0.386	0.208	0.208	33.000
3	0.78	1.994	1.994	43.000
4	1.57	0.177	0.177	50.000

Calculated H Value = 10.126 Critical H Value Table = 7.235
Since Calc H > Crit H REJECT Ho: All groups are equal.



DUNN'S MULTIPLE COMPARISON - KRUSKAL - WALLIS - TABLE 2 OF 2

(p=0.05)

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP			
				0	0	0	0
1	Cont	0.000	0.000	\			
4	1.57	0.177	0.177	*	\		
2	0.386	0.208	0.208	.	.	\	
3	0.78	1.994	1.994	.	.	.	\

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
Table q value (0.05,4) = 2.639 SE = 3.359



INFORME DE BIOENSAYOS DE TOXICIDAD

Código Informe: LB-BIOE-R-05/ 2381

Fecha: 8 de marzo de 2016

SOLICITADO POR : IFOP
TIPO DE BIOENSAYO : Crónico
ESPECIE : *Macrocystis pyrifera*
RESPUESTA MEDIDA : Germinación de esporas
FECHA INICIO BIOENSAYOS : 2 de marzo de 2016
TIEMPO DE EXPOSICION : 5 días
TÓXICO EVALUADO : ZnSO₄ y CuSO₄ en agua de mar
FUENTE DEL TÓXICO : ZnSO₄ .7 H₂O pro-análisis (Sigma-
Aldrich) y Cu SO₄.5 H₂O pro-análisis
(Riedel-deHaën)



CONDICIONES EXPERIMENTALES DEL BIOENSAYO

VOLUMEN / UNIDAD EXP. : 200 mL
NUMERO REPLICAS : 4
INÓCULO DE ESPORAS : 1 mL por réplica
NUMERO DE TRATAMIENTOS : 10 (control, y 9 concentraciones de
Zn²⁺ + Cu²⁺)
TEMPERATURA DE EXPOSICIÓN : 14° C
SALINIDAD AGUA DE MAR : 34 ‰
PH MAYOR CONCENTRACIÓN : 8,3
FOTOPERIODO : 16 horas luz/8 horas oscuridad

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL:

Frondas reproductivas de *Macrocystis pyrifera* (Huiro) se obtuvieron del submareal de caleta Tumbes, Bahía de Concepción. Después de una hora de deshidratación a 14 °C se rehidrataron distribuidas en una capa sobre una rejilla que las separaba a 4 cm del fondo de una caja plástica con 2 L de agua de mar (34 ‰) agitada por burbujeo de aire. Tres horas después de la inmersión, las frondas habían liberado abundantes esporas. La evaluación del efecto combinado de iones zinc y cobre sobre la germinación de las esporas de *M. pyrifera* se realizó por exposición de las zoosporas a un gradiente de concentración de ZnSO₄ y CuSO₄ disueltos en agua de mar, incluyendo las concentraciones NOEC independientes de cada ión simultáneamente en un recipiente. El resto de las concentraciones se prepararon en factor de 0,5 de los respectivos NOEC. Un mL del agua con zoosporas se inoculó en cada recipiente con 200 mL de las soluciones de iones combinados que contenían un portaobjetos de vidrio para adherencia de las esporas.



Transcurridos 5 días desde el ingreso de las esporas se efectuó la medición de la longitud del tubo de germinación (embrión del gametofito) de 20 esporas germinadas por réplica.

Este protocolo está basado en Anderson, B.S y J.W. Hunt. 1989. Bioassay methods for evaluating the toxicity of heavy metals, biocides and sewage effluents using *Macrocystis pyrifera* (Agardh): a preliminary report. Marine Environ. Res. 26: 133-134.



RESULTADOS:

El efecto sobre la longitud del tubo de germinación de las zoosporas de *M. pyrifera* por exposición a un rango de concentraciones de zinc + cobre se presenta en la tabla 1.

Tabla 2. Longitud del tubo de germinación en esporas expuestas a Zn^{2+} y Cu^{2+} .



	$Zn^{2+} + Cu^{2+}$ (mg/L) (nominal) [analítica]	Longitud del tubo de germinación (μm). $\bar{X} \pm DE$. N=10				
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Promedio
Control	(0 + 0) [0,006+0,0036]	14,2 \pm 1,7	13,8 \pm 1,6	14,3 \pm 1,7	13,8 \pm 1,6	14,0
C1	(0,56 + 0,019) [0,299 + ¿?]	11,7 \pm 1,9	11,6 \pm 1,6	12,0 \pm 1,5	11,6 \pm 1,6	11,7 *
C2 NOEC	(1,13 + 0,038) [0,599 + 0,011]	10,8 \pm 1,2	10,5 \pm 0,9	10,7 \pm 0,9	10,8 \pm 1,2	10,7 *
C3	(2,27 + 0,079) [1,252 + 0,019]	8,5 \pm 1,5	8,9 \pm 1,0	8,9 \pm 0,9	9,0 \pm 0,9	8,8 *
C4	(4,55 + 0,159) [4,879 + 0,035]	7,8 \pm 1,0	7,4 \pm 1,1	8,0 \pm 0,8	7,5 \pm 1,2	7,7 *
C5	(9,1 + 0,318) [~7,719 + 0,284]	6,6 \pm 1,0	6,6 \pm 0,9	6,7 \pm 1,1	6,5 \pm 1,1	6,6 *
C6	(18,2 + 0,636) [20,316 + 0,511]	5,4 \pm 2,0	5,7 \pm 1,3	5,5 \pm 1,8	5,4 \pm 1,2	5,5 *
C7	(36,4 + 1,272) [~40 + 0,76]	4,9 \pm 0,4	4,9 \pm 0,4	4,8 \pm 0,4	4,9 \pm 0,4	4,9 *
C8	(72,8 + 2,545) [~80 + 1,424]	--	--	--	--	--
C9	(145,6 + 5,09)	--	--	--	--	--

*Estadísticamente diferente al control.



La longitud promedio del tubo de germinación en el agua control (14,0 μm) es estadísticamente distinta a la longitud registrada en los tratamientos con metales combinados (Zn^{2+} y Cu^{2+}), incluso a la mitad de las concentraciones NOEC individuales de cada metal (0,56 Zn^{2+} + 0,019 Cu^{2+} mg/L) (Anexo 1). Las concentraciones NOEC de ambos iones (1,13 mg/L de Zn^{2+} y 0,038 mg/L de Cu^{2+}) al estar combinadas en una solución generan un acortamiento del tubo de germinación con una longitud promedio de 10,7 μm , es decir un 23 % más corto que el promedio registrado en el agua control. Las concentraciones NOEC individuales diluidas a la mitad y combinadas en una solución todavía generan una respuesta significativa en la germinación de la espora, cuyo tubo de germinación es un 16 % más corto que en el control.



CONCLUSION:



- La germinación de la espora en *M. pyrifer* se manifiesta por el asentamiento de la espora flagelada, su adherencia al sustrato y desarrollo de una proyección tubular que dará origen al gametofito.
- El largo del tubo de germinación se reduce gradualmente con el incremento de la concentración nominal combinada de Zn^{2+} y Cu^{2+} hasta la inhibición completa de la germinación de las esporas a concentraciones simultáneas de 72,8 mg/L de Zn^{2+} y 2,5 mg/L de Cu^{2+} .
- La combinación de ambos iones intensifica la toxicidad individual de éstos de modo que una concentración 50 % más baja que el NOEC de cada metal en exposición individual genera un acortamiento del tubo de germinación, que si bien es solo un 16 % menor al control, la diferencia es estadísticamente significativa.
- En las concentraciones más bajas del rango evaluado de ambos iones, la cantidad real del ión disuelto y medido analíticamente es aproximadamente la mitad del valor nominal. Entonces los NOEC nominales de zinc y cobre (1,13 y 0,038 mg/L) corresponden en la realidad a 0,599 y 0,011 mg/L respectivamente. La dilución a la mitad de esos valores pero que al estar combinados tienen repuesta tóxica en las esporas implica que a partir de aproximadamente 0,3 mg/L de Zn^{2+} junto a 0,006 mg/l de Cu^{2+} hay efecto inhibitor medible en el desarrollo del gametofito de *Macrocystis pyrifer*.

Jeannette Silva
Investigador Responsable



Dr. Enrique Bay-Schmith
Director



Anexo 1. Análisis estadístico de la longitud del tubo de germinación en presencia de Zn^{2+} y Cu^{2+} . Significancia de la diferencia entre control y tratamientos.

Germinacion x Zn

File: tubZC

Transform: NO TRANSFORMATION



ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	151.915	30.383	710.252
Within (Error)	18	0.770	0.043	
Total	23	152.685		

Critical F value = 2.77 (0.05,5,18)

Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 : All equal



DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 H_0 :Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	Control	14.025	14.025		
2	C1	11.725	11.725	15.727	*
3	C2	10.700	10.700	22.735	*
4	C3	8.825	8.825	35.556	*
5	C4	7.675	7.675	43.419	*
6	C5	6.600	6.600	50.769	*

Dunnett table value = 2.76 (2 Tailed Value, $P=0.05$, $df=18,5$)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 H_0 :Control=Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	Control	4			
2	C1	4	0.404	2.9	2.300
3	C2	4	0.404	2.9	3.325
4	C3	4	0.404	2.9	5.200
5	C4	4	0.404	2.9	6.350
6	C5	4	0.404	2.9	7.425

**INFORME DE ANÁLISIS AMBIENTAL
DESCRIPCIÓN DEL ENTORNO Y DEL CENTRO DE CULTIVO
N° 8585 / 2016**

Solicitante	Instituto de Fomento Pesquero	Nombre del centro	Chequian
At. Sr	Rodrigo Vera S.	Fecha muestreo	03/02/2016
Dirección	Blanco 839 - Valparaíso	Inicio muestreo	9:38
Entidad muestreadora	Cetecsal S.A	Fin muestreo	17:36
Responsable muestreo	Ivan Mercado	N° Proyecto	15-0226

RESULTADOS

Descripción del entorno

Tipo de cuerpo de agua	Estuario	Canal marino	Bahía	Otro (especificar)
		X		

Existencia de ríos en el sector	Sí	No
		X

Otras actividades económicas existentes en el sector	No hay
---	--------

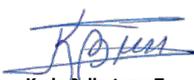
Otros centros de cultivo existentes en el sector	No hay
---	--------

Condiciones meteorológicas

Pluviosidad	No hay
Nubosidad	Nublado
Intensidad del viento	12 nudos
Dirección del viento	Sur

Observaciones

Metodología y Plan de muestreo basados en la Resolución N° 3612/2009, del Reglamento Ambiental para la Acuicultura (D.S. 320/01)


Karla Ballesteros T.
Gestor Ambiental
Castro, 10 de Febrero de 2016.

Este informe no debe ser reproducido total ni parcialmente sin la aprobación escrita de Laboratorio CETECESAL S.A.
Laboratorio CETECESAL S.A., es responsable sólo por los valores analíticos de las muestras recibidas

**INFORME DE ANÁLISIS AMBIENTAL
DESCRIPCIÓN DEL ENTORNO Y DEL CENTRO DE CULTIVO
N° 8586 / 2016**

Solicitante	Instituto de Fomento Pesquero	Nombre del centro	Chequian
At. Sr	Rodrigo Vera S.	Fecha muestreo	04/02/2016
Dirección	Blanco 839 - Valparaíso	Inicio muestreo	7:30
Entidad muestreadora	Cetecsal S.A	Fin muestreo	16:00
Responsable muestreo	Ivan Mercado	N° Proyecto	15-0226

RESULTADOS

Descripción del entorno

Tipo de cuerpo de agua	Estuario	Canal marino	Bahía	Otro (especificar)
		X		

Existencia de ríos en el sector	Sí	No
		X

Otras actividades económicas existentes en el sector	No hay
---	--------

Otros centros de cultivo existentes en el sector	No hay
---	--------

Condiciones meteorológicas

Pluviosidad	No hay
Nubosidad	Despejado
Intensidad del viento	10 nudos
Dirección del viento	Sur

Observaciones

Metodología y Plan de muestreo basados en la Resolución N° 3612/2009, del Reglamento Ambiental para la Acuicultura (D.S. 320/01)



**Karla Ballesteros T.
Gestor Ambiental
Castro, 10 de Febrero de 2016.**

Este informe no debe ser reproducido total ni parcialmente sin la aprobación escrita de Laboratorio CETECESAL S.A.
Laboratorio CETECESAL S.A., es responsable sólo por los valores analíticos de las muestras recibidas

**INFORME DE ANÁLISIS AMBIENTAL
OXÍGENO DISUELTO, SALINIDAD Y TEMPERATURA EN LA COLUMNA
N° 8584 / 2016**

Solicitante	Instituto de Fomento Pesquero	Nombre del centro	Chequian
At. Sr(a)	Rodrigo Vera S.	Fecha muestreo	04/02/2016
Dirección	Blanco 839 - Valparaíso	Inicio muestreo	9:48
Muestra	Agua de Mar	Fin muestreo	10:09
N° de muestras	10	Medidor salinidad	CTDO - 4
Entidad muestreadora	Cetecsal S.A	Medidor oxígeno	CTDO - 4
Responsable del muestreo	Iván Mercado	N° Proyecto	15-0226

RESULTADOS

Perfil 1					
Profundidad (m)	Oxígeno disuelto (ml/l)	Oxígeno disuelto (mg/l)	Temperatura (°C)	Salinidad (PSU)	Saturación (%)
0	8.9	12.7	15.7	33.1	156
5	7.8	11.1	13.9	33.1	132
10	6.8	9.7	13.5	33.1	114
15	6.5	9.3	13.3	33.1	109
20	5.3	7.6	12.5	33.1	88
25	5.2	7.5	12.4	33.1	86
30	5.2	7.4	12.4	33.1	85
40	5.0	7.2	12.2	33.2	83
50	5.0	7.1	12.1	33.2	81
52	4.9	7.1	12.1	33.2	81

Z = 53

Observaciones

Metodología AMB-M-06 y Plan de muestreo basados en la Resolución N° 3612/09, del Reglamento Ambiental para la Acuicultura (D.S. 320/01)

Identificación de las Muestras

Perfil 1	Chequian
-----------------	----------

	Norte	Este
Coordendas estación (UTM, WGS-84)	5283342	631784

Solicitante	Instituto de Fomento Pesquero	Nombre del centro	Chequian
At. Sr(a)	Rodrigo Vera S.	Fecha muestreo	04/02/2016
Dirección	Blanco 839 - Valparaíso	Inicio muestreo	10:26
Muestra	Agua de Mar	Fin muestreo	10:55
Nº de muestras	13	Medidor salinidad	CTDO - 4
Entidad muestreadora	Cetecsal S.A.	Medidor oxígeno	CTDO - 4
Responsable del muestreo	Iván Mercado	Nº Proyecto	15-0226

RESULTADOS

Perfil 2

Profundidad (m)	Oxígeno disuelto (ml/l)	Oxígeno disuelto (mg/l)	Temperatura (°C)	Salinidad (PSU)	Saturación (%)
0	8.3	11.9	14.7	33.0	144
5	7.4	10.5	13.7	33.0	124
10	7.0	10.0	13.5	33.0	118
15	6.2	8.9	13.0	33.1	104
20	6.1	8.7	12.9	33.1	101
25	6.0	8.5	12.9	33.1	99
30	5.9	8.4	12.8	33.1	98
40	5.3	7.6	12.5	33.1	88
50	5.2	7.4	12.4	33.1	85
60	5.1	7.2	12.3	33.1	83
70	5.0	7.2	12.3	33.1	83
80	5.0	7.2	12.2	33.2	83
82	5.0	7.2	12.3	33.1	83

Z = 83

Observaciones

Metodología AMB-M-06 y Plan de muestreo basados en la Resolución Nº 3612/09, del Reglamento Ambiental para la Acuicultura (D.S. 320/01)

Identificación de las Muestras

Perfil 2	Chequian
-----------------	----------

	Norte	Este
Coordendas estación (UTM, WGS-84)	5283664	631288

Solicitante	Instituto de Fomento Pesquero	Nombre del centro	Chequian
At. Sr(a)	Rodrigo Vera S.	Fecha muestreo	04/02/2016
Dirección	Blanco 839 - Valparaíso	Inicio muestreo	11:13
Muestra	Agua de Mar	Fin muestreo	11:39
Nº de muestras	12	Medidor salinidad	CTDO - 4
Entidad muestreadora	Cetecsal S.A.	Medidor oxígeno	CTDO - 4
Responsable del muestreo	Iván Mercado	Nº Proyecto	15-0226

RESULTADOS

Perfil 3					
Profundidad (m)	Oxígeno disuelto (ml/l)	Oxígeno disuelto (mg/l)	Temperatura (°C)	Salinidad (PSU)	Saturación (%)
0	8.8	12.6	15.8	33.0	155
5	8.5	12.2	14.6	33.0	147
10	7.8	11.2	13.9	33.0	133
15	7.0	10.0	13.5	33.0	118
20	6.5	9.2	13.2	33.0	108
25	6.1	8.8	13.0	33.0	103
30	5.9	8.5	12.9	33.1	99
40	5.5	7.8	12.6	33.1	90
50	5.1	7.2	12.3	33.1	83
60	5.0	7.2	12.2	33.1	83
70	5.0	7.1	12.2	33.1	81
79	4.9	7.0	11.9	33.2	80
Z = 80					

Observaciones

Metodología AMB-M-06 y Plan de muestreo basados en la Resolución N° 3612/09, del Reglamento Ambiental para la Acuicultura (D.S. 320/01)

Identificación de las Muestras

Perfil 3	Chequian
----------	----------

	Norte	Este
Coordenadas estación (UTM, WGS-84)	5283476	631511



Iván Mercado
Muestreador Técnico
Castro, 09 de Febrero de 2016.



Karla Ballesteros T.
Gestor Ambiental
Castro, 09 de Febrero de 2016.

Este informe no debe ser reproducido total ni parcialmente sin la aprobación escrita de Laboratorio CETECESAL S.A.
Laboratorio CETECESAL S.A., es responsable solo por los valores analíticos de las muestras recibidas

**INFORME DE ANÁLISIS AMBIENTAL
POTENCIALES REDOX / POTENCIAL DE HIDRÓGENO/TEMPERATURA
N° 8583 / 2016.**

Solicitante	Instituto de Fomento Pesquero	Nombre del centro	Chequian
At. Sr	Rodrigo Vera S.	Fecha muestreo	03/02/2016
Dirección	Bianco 839 - Valparaíso	Inicio muestreo	9:38
Muestra	Sedimento marino	Termino de muestreo	14:08
N° de muestras	24	Equipo pH y ORP	MPH17 / MEH06
Entidad muestreadora	Cetecsal S.A.	Sonda pH/temperatura	SPH70
Responsable del muestreo	Ivan Mercado	Sonda ORP	EEH23
N° Proyecto	15-0226	Sonda Temperatura	75

RESULTADOS

Estación 1.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	-137	7.1	13.5	215	78
Réplica 2	-36	7.3	13.6	215	179
Réplica 3	-247	6.8	13.6	215	-32
Estación 2.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	-44	6.6	13.2	215	171
Réplica 2	-196	7.3	13.3	215	19
Réplica 3	-169	7.3	13.5	215	46
Estación 3.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	-208	7.2	12.5	216	8
Réplica 2	-201	7.2	12.8	215	14
Réplica 3	238	7.4	13.1	215	453
Estación 4.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	-51	7.7	13.1	215	164
Réplica 2	-3	7.7	13.5	215	212
Réplica 3	53	7.0	13.4	215	268
Estación 5.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	-34	7.0	13.7	215	161
Réplica 2	-40	7.6	13.5	215	175
Réplica 3	-25	7.6	13.6	215	190
Estación 6.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	200	7.7	13.5	215	415
Réplica 2	230	7.7	13.4	215	445
Réplica 3	209	7.6	13.5	215	424
Estación 7.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	-98	7.5	13.8	215	117
Réplica 2	-21	6.9	13.9	215	194
Réplica 3	18	7.3	13.9	215	233
Estación 8.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	-44	7.7	13.7	215	171
Réplica 2	-16	7.6	13.5	215	199
Réplica 3	-53	7.8	13.6	215	162

Observaciones

Metodologías AMB-M-03 y AMB-M-04, y Plan de muestreo basados en la Resolución N° 3612/09, del Reglamento Ambiental para la Acuicultura (D.S. 320/01)

(1) Dato según el proveedor, se observa la T° y se hace la conversión de un electrodo de referencia de Ag/AgCl a un electrodo estándar de hidrógeno SNH.

Solicitante	Instituto de Fomento Pesquero	Nombre del centro	Chequán
At. Sr	Ruth Marín	Fecha muestreo	03/02/2016
Dirección	Bianco 839 - Valparaíso	Inicio muestreo	14:08
Muestra	Sedimento marino	Termino de muestreo	17:36
Nº de muestras	21	Equipo pH y ORP	MPH17 / MEH06
Entidad muestreadora	Cetecsal S.A	Sonda pH	SPH70
Responsable del muestreo	Ivan Mercado	Sonda ORP	EEH23
Nº Proyecto	15-0226	Sonda Temperatura	75

RESULTADOS

Estación 9.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	-28	7.4	13.8	215	187
Réplica 2	-65	7.4	13.6	215	150
Réplica 3	-25	7.3	13.6	215	190

Estación 10.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	-12	7.7	13.5	215	203
Réplica 2	-30	7.1	13.4	215	185
Réplica 3	-37	7.6	13.5	215	178

Estación 11.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	48	7.6	14.2	214	262

Estación 12.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	109	7.7	13.7	215	324
Réplica 2	20	7.7	13.7	215	235
Réplica 3	-66	7.8	13.9	215	149

Estación 13.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	253	7.8	17.3	212	465
Réplica 2	250	7.9	17.2	212	462

Estación 14.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	195	7.6	14.3	214	409
Réplica 2	217	7.9	14.2	214	431
Réplica 3	225	7.8	14.2	214	439

Control 1.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	68	7.6	13.4	215	283
Réplica 2	-48	7.7	13.6	215	167
Réplica 3	59	7.7	13.6	215	274

Control 2.	Potencial REDOX (mV Ag/AgCl)	pH	Temperatura (°C)	Factor de corrección	Potencial REDOX Eh (NHE)
Réplica 1	4	7.6	14.5	214	218
Réplica 2	-34	7.5	14.3	214	180
Réplica 3	-6	7.6	14.6	214	208

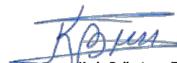
Observaciones

Metodologías AMB-M-03 y AMB-M-04, y Plan de muestreo basados en la Resolución N° 3612/09, del Reglamento Ambiental para la Acuicultura (D.S. 320/01)

(1) Dato según el proveedor, se observa la T° y se hace la conversión de un electrodo de referencia de Ag/AgCl a un electrodo estándar de hidrogeno SNH.



Iván Mercado
Muestreador Técnico
Castro, 10 de Febrero de 2016.



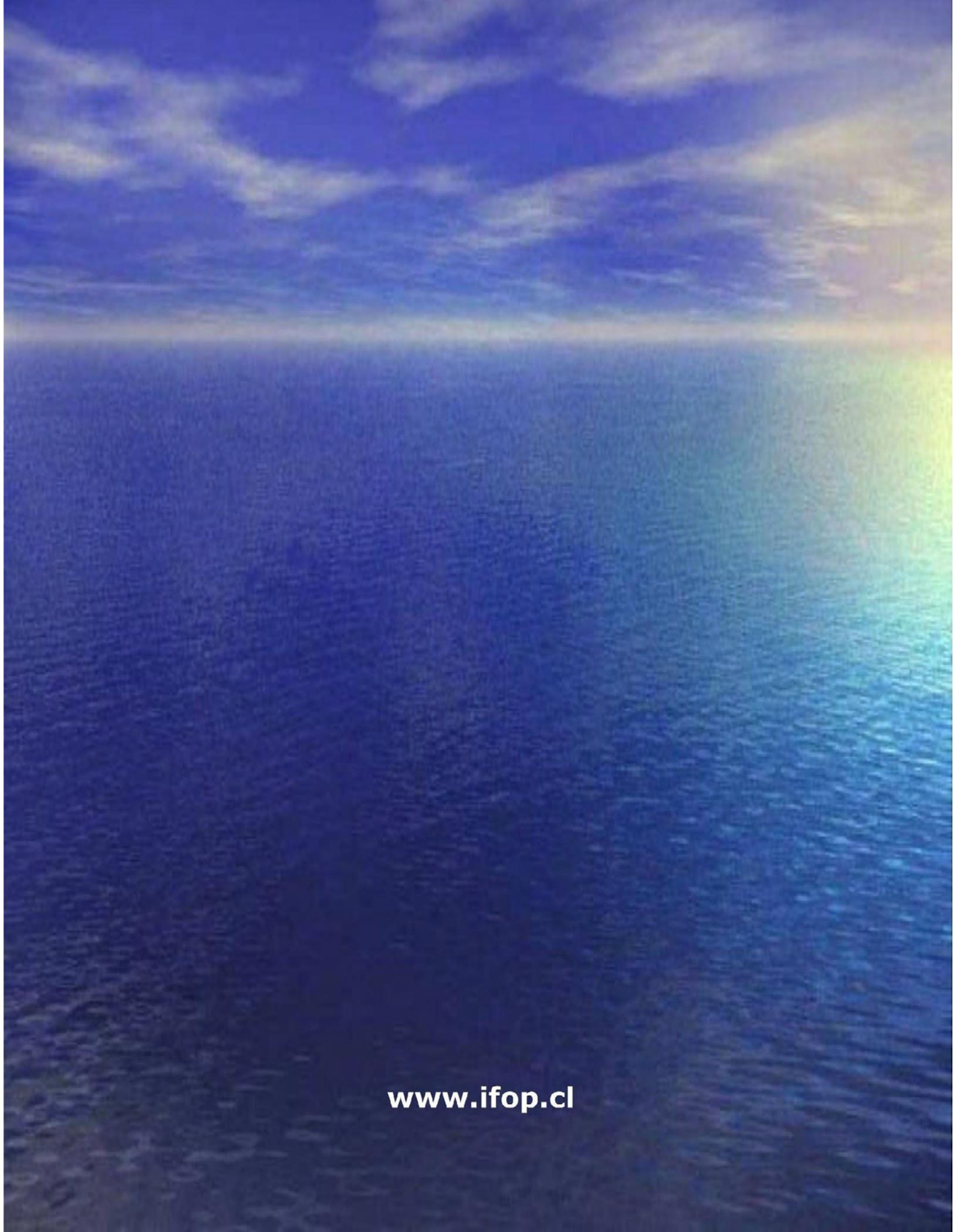
Karla Ballesteros T.
Gestor Ambiental
Castro, 10 de Febrero de 2016.

Este informe no debe ser reproducido total ni parcialmente sin la aprobación escrita de Laboratorio CETECESAL S.A.
Laboratorio CETECESAL S.A., es responsable solo por los valores analíticos de las muestras recibidas



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Sección Ediciones y Producción
Almte. Manuel Blanco Encalada 839
Fono 56-32-2151500
Valparaíso, Chile
www.ifop.cl



www.ifop.cl