

PROGRAMA DE MONITOREO MEDIO MARINO Y ESTUARINO, PROYECTO MAPA

(MODERNIZACIÓN AMPLIACIÓN
PLANTA ARAUCO, MAPA).



ESTUDIOS ECOTOXICOLÓGICOS AGUA Y SEDIMENTOS

Campaña 9,
2º Trimestre 2017

INSTITUCIÓN EJECUTORA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE LA SANTÍSIMA CONCEPCIÓN

CENTRO REGIONAL DE ESTUDIOS AMBIENTALES

Laboratorio de Ecotoxicología

PERSONAL PARTICIPANTE

Nombres	Profesión/Cargo	Función y Tareas
Claudio Espinoza Mendoza	Biólogo. Magister en Medio Ambiente	Responsable de la coordinación general.
Eduardo Fuhrer Meneses	Biólogo Marino	Responsable de la coordinación de terreno. Levantamiento información en terreno. Realización de Bioensayos agudos y crónicos. Generación de reportes e informes.
Margarita Donoso Gajardo	Biólogo	Levantamiento información en terreno. Realización de Bioensayos agudos y crónicos Generación de reportes e informes.
Marisol Gajardo Castillo	Biólogo	Levantamiento información en terreno. Generación de reportes e informes.
Rodrigo Díaz Yañez	Biólogo Marino Magister en Acuicultura.	Levantamiento información en terreno componentes agua y sedimento. Generación de reportes e informes

Claudio Gayoso Flores	Técnico	Apoyo levantamiento información en terreno.
Robinson Carrasco Morales	Técnico	Apoyo levantamiento información en terreno.
Guillermo Guerrero Correa	Técnico	Apoyo levantamiento información en terreno.

1.- RESUMEN EJECUTIVO	2
2.- INTRODUCCIÓN	4
3.- OBJETIVOS	6
4.- MATERIALES Y MÉTODOS	8
4.1.- ÁREA DE ESTUDIO.	8
4.2.- DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA.	9
4.3.- AGUA DE MAR DE LENGUA (CONTROL NEGATIVO).....	14
4.4.- EJECUCIÓN DE LAS DILUCIONES.....	14
4.5.- EXPRESIÓN DE RESULTADOS DE LOS PARÁMETROS MEDIDOS	15
4.6.- MUESTREO DE AGUA.	16
4.7.- MUESTREO DE SEDIMENTOS EN LAS COMPONENTES Y SUBCOMPONENTES PROPUESTAS	17
4.8.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE AGUA PARA LOS BIOENSAYOS.....	17
4.9.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE SEDIMENTOS PARA LOS BIOENSAYOS	17
4.10.- CONTROLES NEGATIVO Y POSITIVO	18
4.11.- ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.....	18
4.12.- PROTOCOLO DE METODOLOGÍAS DE BIOENSAYOS CON ESPECIES MARINAS.	19
4.12.1.- Protocolo del bioensayo de toxicidad aguda en copépodo <i>Tisbe longicornis</i>	19
4.12.2.- Protocolo del bioensayo de toxicidad crónica de microalga <i>Isochrysis galbana</i>	21
4.12.3.- Protocolo de test de toxicidad crónica con erizo de mar:	23
5. RESULTADOS	27
5.1. COMPONENTE AMBIENTAL: AGUA	27
5.1.1 Subcomponente: Agua Intermareal.....	27
5.1.1.1. Parámetro: Toxicidad Aguda	27
5.1.1.2.- Parámetro: Toxicidad Crónica.....	28
5.1.2. Subcomponente: Agua Submareal.....	30
5.1.2.1. Parámetro: Toxicidad aguda	30
5.1.2.2.- Parámetro: Toxicidad crónica	34
5.1.3. Subcomponente: Agua Estuarina.....	42
5.1.3.1. Parámetro: Toxicidad Aguda	42
5.1.3.2.- Parámetro Ambiental: Toxicidad crónica.....	43
5.2.- COMPONENTE AMBIENTAL: SEDIMENTO.....	46
5.2.1. Subcomponente: Sedimento Intermareal	46
5.2.1.1.- Parámetro: Toxicidad Aguda	46
5.2.1.2. Parámetro: Toxicidad crónica.....	49
5.2.2. Subcomponente: Sedimento Submareal	50
5.2.2.1. Parámetro: Toxicidad Aguda	50
5.2.2.2.- Parámetro: Toxicidad Crónica.....	52
5.2.3. Subcomponente: Sedimento Estuarino	56
5.2.3.1. Parámetro: Toxicidad Aguda	56
5.2.3.2. Parámetro: Toxicidad Crónica	59
6.- DISCUSIÓN	60
7.- CONCLUSIONES	61
8.- BIBLIOGRAFÍA	62

1.- RESUMEN EJECUTIVO.

En este capítulo se estudió las componentes ambientales Agua y sedimento (elutriado), subcomponentes agua de mar y estuarina y sedimentos marinos y estuarinos, respectivamente, en sus variables ecotoxicología de agua submareal, intermareal y estuarina y ecotoxicología de sedimentos submareal, intermareal y estuarinos, en las estaciones definidas en la Resolución de Calificación Ambiental, N° 037/2014 que califica ambientalmente al proyecto Modernización Ampliación Planta Arauco, Celulosa Arauco y Constitución S.A., (MAPA).

Los muestreos fueron realizados durante los días 2, 3 y 4 de Mayo 2017 y corresponde a la novena campaña del Plan de Seguimiento Ambiental, MAPA, en el sector comprendido entre Estero Laraquete y Estero Carampangue.

En la presente campaña, no se evidenció efecto tóxico agudo significativo para las muestras de agua y sedimento, obtenidas en las estaciones de las subcomponentes marina y estuarina, evidenciándose valores de no detectado (N.D.), para todas las muestras analizadas.

Se evidenció efecto tóxico crónico significativo para las muestras de sedimento submareal de la estación LBA-2 en la especie *Arbacia spatuligera* (% de fecundación de gametos) donde se encontró valor de $CI_{50} = 84,41$ % de la muestra.

Excluyendo la estación LBA-2, para el ensayo de fecundación de *A. spatuligera*, donde si se encontró efecto toxicológico significativo, en el resto de las muestras de agua y sedimento, obtenidas en las estaciones de las subcomponentes marina y estuarina, no se evidenció efecto tóxico crónico significativo obteniéndose valores de no detectado (N.D.), para el resto de las muestras analizadas. Igual resultado se cuantificó para el ensayo crónico del proceso de crecimiento poblacional de *Isochrysis galbana*.

De acuerdo a los resultados de los bioensayos agudos y crónicos realizados en las componentes ambientales agua y sedimento, en sus subcomponentes marina y estuarina, se debe señalar que en general, la calidad de las muestras analizadas, no evidencia efectos agudos y/o crónicos significativos (efectos superiores al 50%), en la mayoría de las estaciones monitoreadas. Debiendo poner atención en la estación LBA-2 para la componente sedimento submareal, en el ensayo de fecundación de *A. spatilugera*.

2.- INTRODUCCIÓN

En este capítulo se detallan los resultados de bioensayos agudos y crónicos de las componentes ambientales agua y sedimento, obtenidas del ambiente intermareal, submareal y estuarino, en las estaciones definidas en la Resolución de Calificación Ambiental, N° 037/2014 (considerando 8.7 Programa de Medio Marino y Estuarino) que califica ambientalmente al proyecto Modernización Ampliación Planta Arauco, Celulosa Arauco y Constitución S.A., (MAPA).

El muestreo fue realizado por personal de Universidad Católica de la Santísima Concepción y los análisis de los bioensayos agudos y crónicos se realizaron en el Laboratorio de Ecotoxicología (CREA), de la misma universidad. Este se realizó durante la primera semana, los días 2, 3 y 4 del mes de Mayo 2017 y corresponde a la novena campaña del Plan de Seguimiento Ambiental, MAPA.

El muestreo de agua y sedimento fue llevado a cabo en el intermareal y en el submareal del sector comprendido entre Estero Laraquete y estero Carampangue, más los ambientes estuarinos de los antes mencionados esteros.

El informe muestra los resultados de los bioensayos agudos, usando como criterio de evaluación la sobrevivencia de los organismos sometidos a ensayos y de bioensayos crónicos, en los que se utilizó como criterio de evaluación la fecundación de gametos y tasa de crecimiento en microalgas, para las componentes agua y sedimento, usando el elutriado en esta última matriz.

Los bioensayos se realizaron considerando como criterios básicos de ejecución, los establecidos por la agencia de protección ambiental de Estados Unidos (US EPA 1988, 1990, 1993, 1994, 1995 y 2002), incluyendo, además metodologías utilizadas por investigadores nacionales.

Tabla 1.- Programa de Monitoreo Ecotoxicología: Bioensayos Agua y Sedimento Submareal, Intermareal y Estuarino¹

Matriz	Nº de Estaciones de Muestreo	Localización de Estaciones	Profundidad de Muestreo	Parámetros
Agua Marina Submareal	8 estaciones	5 estaciones en el sector de Horcones, correspondientes a aquellas en que actualmente se realiza el PVA de Planta Arauco (para mantener serie de datos histórica). Además de 3 estaciones ubicadas en AMERB cercanas y en ZPL. Las estaciones involucradas en este monitoreo son: LBA-2 LBA-3 LBA-4 LBA-8 LBA-13 LBA-ZPL (Zona ZPL) LBA-1 (AMERB Laraquete) LBA-5 (AMERB Carampangue)	2 niveles (superficie y fondo)	Bioensayo Agudo (<i>Tisbe longicornis</i> (CL ₅₀)): Supervivencia Bioensayo Crónico (<i>Arbacia spatuligera</i> (CI ₅₀)): Fecundación de gametos Bioensayo Crónico (<i>Isochrysis galbana</i> (CE ₅₀)): Tasa de crecimiento
Agua Marina Intermareal	3 estaciones	3 estaciones en el sector de Horcones. Las estaciones involucradas en este monitoreo son: LBA-G (Sector Laraquete) LBA-E (Sector Emisario) LBA-B (Sector Carampangue)	1 nivel (superficial)	Bioensayo Agudo (<i>Tisbe longicornis</i> (CL ₅₀)): Supervivencia Bioensayo Crónico (<i>Arbacia spatuligera</i> (CI ₅₀)): Fecundación de gametos Bioensayo Crónico (<i>Isochrysis galbana</i> (CE ₅₀)): Tasa de crecimiento
Agua Estuarina	2 estaciones	1 estación en río Laraquete 1 estación en río Carampangue Las estaciones involucradas en este monitoreo son: LBA-17 LBA-18	1 nivel superficial	Bioensayo Agudo (<i>Tisbe longicornis</i> (CL ₅₀)): Supervivencia Bioensayo Crónico (<i>Arbacia spatuligera</i> (CI ₅₀)): Fecundación de gametos Bioensayo Crónico (<i>Isochrysis galbana</i> (CE ₅₀)): Tasa de crecimiento
Sedimento Marino Submareal	8 estaciones	5 estaciones en el sector de Horcones, correspondientes a aquellas en que actualmente se realiza monitoreo (para mantener serie de datos histórica). Las estaciones involucradas en este monitoreo son: LBA-2 LBA-3 LBA-4 LBA-8 LBA-13	1 nivel superficial	Todos los bioensayos sobre Elutriado del sedimento Bioensayo Agudo (<i>Tisbe longicornis</i> (CL ₅₀)): Supervivencia Bioensayo Crónico (<i>Arbacia spatuligera</i> (CI ₅₀)): Fecundación de gametos

Matriz	Nº de Estaciones de Muestreo	Localización de Estaciones	Profundidad de Muestreo	Parámetros
		Además, LBA-ZPL (Zona ZPL) LBA-1 (AMERB Laraquete) LBA-5 (AMERB Carampangue)		Bioensayo Crónico (<i>Isochrysis galbana</i> (CE ₅₀)): Tasa de crecimiento
Sedimento Marino Intermareal	3 estaciones	3 estaciones en el sector de Horcones. Las estaciones involucradas en este monitoreo son: LBA-G (Sector Laraquete) LBA-E (Sector Emisario) LBA-B (Sector Carampangue)	1 nivel superficial	Todos los bioensayos sobre Elutriado del sedimento Bioensayo Agudo (<i>Tisbe longicornis</i> (CL ₅₀)): Supervivencia Bioensayo Crónico (<i>Arbacia spatuligera</i> (CI ₅₀)): Fecundación de gametos Bioensayo Crónico (<i>Isochrysis galbana</i> (CE ₅₀)): Tasa de crecimiento
Sedimento Estuarino	2 estaciones	1 estación en río Laraquete 1 estación en río Carampangue Las estaciones involucradas en este monitoreo son: LBA-17 LBA-18	1 nivel superficial	Bioensayo Agudo (<i>Tisbe longicornis</i> (CL ₅₀)): Supervivencia Bioensayo Crónico (<i>Arbacia spatuligera</i> (CI ₅₀)): Fecundación de gametos Bioensayo Crónico (<i>Isochrysis galbana</i> (CE ₅₀)): Tasa de crecimiento

⁽¹⁾: Transcripción literal de Tabla 8-18 de RCA 37/2104

3.- OBJETIVOS

1. Verificar que las medidas establecidas durante la evaluación ambiental son las adecuadas y suficientes para mantener el estado toxicológico actual, del cuerpo de agua receptor (Golfo de Arauco), en el cual se vierten, los residuos industriales líquidos de Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco, esto mediante la realización de bioensayos agudos y crónicos, sobre organismos

vivos, en diferentes estados de desarrollo y en particular en las componentes ambientales agua y sedimento, durante el segundo trimestre del 2017.

2. Disponer de bioensayos de toxicidad aguda y crónica, que permitan obtener resultados confiables y reproducibles, considerando los criterios de control y aseguramiento de calidad, que permitan una evaluación y comparación consistentes, tanto en el espacio como en el tiempo.

4.- MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.- Área de estudio.

El área de estudio del monitoreo del Proyecto MAPA se ubica en el SE del Golfo de Arauco, el cual se extiende entre punta Cullinto y Punta Lavapie ($36^{\circ}45'S-37^{\circ}10'S$). El Golfo de Arauco limita con la Isla Santa María por el Oeste. La costa E y S del Golfo se encuentra limitada por extensas playas de arenas blancas y negras. El golfo está expuesto a los vientos del N en época invernal y del S y SW en primavera y verano. La circulación del golfo está determinada principalmente por la marea y el viento, siendo este último el que determina la presencia de eventos de surgencia y hundimiento. Esta alternancia determina un patrón de circulación general donde entre agua por el Oeste y sale por el costado Este durante la surgencia activa, asociada a los vientos S y SW y entra agua por el Este y sale por el Oeste durante la relajación de la surgencia con dominio de viento N (Parada *et. al.*, 2001). El área de estudio de este programa de monitoreo se ubica en la parte sur de la Playa Laraquete, la que corre por 12 km aproximadamente al sur de Laraquete hasta la desembocadura del río Carampangue. El sector donde se ubican las estaciones de muestreo, en el fondo marino es somero, siendo dominado por el veril de 10 m después de la rompiente. La pendiente del fondo marino es suave por lo que el aumento de profundidad en dirección a mar adentro es gradual.

El ambiente litoral y sublitoral del Golfo de Arauco, entre Punta Cullinto y Punta Coronel está caracterizado por arenas de grano medio a grueso, siendo más gruesas en la zona central del Golfo de Arauco en la cercanía de la desembocadura del río Bio Bio. En la zona adyacente a las playas de Laraquete y Tubul, se presentan arenas de grano fino. En este sector no existe talud y limita mar adentro con áreas de sedimentación de arenas más gruesas. En la zona sublitoral, frente a la playa de Arauco se presentan sedimentos finos (limo-arenosos) superficialmente reductores, manteniéndose finos hacia la zona central del golfo, lo cual puede ser explicado por la mayor profundidad (Pineda *et. al.*, 1991).

4.2.- Descripción del Programa.

El programa de Monitoreo del Medio Marino y Estuarino de la Planta Arauco en el marco de la Modernización Ampliación Planta Arauco (MAPA) en lo que dice relación al seguimiento de Bioensayos agudos y crónicos de la columna de agua y sedimentos en medio intermareal, submareal y estuarino incluye los siguientes estudios especificados en la RCA 37/2014:

- Bioensayo Agudo (*Tisbe longicornis* (CL₅₀)): Supervivencia
- Bioensayo Crónico (*Arbacia spatuligera* (CI₅₀)): Fecundación de gametos
- Bioensayo Crónico (*Isochrysis galbana* (CE₅₀)): Tasa de crecimiento

En este estudio se evalúa la calidad de la columna de agua y sedimentos, a través de bioensayos, del ambiente submareal en la zona aledaña a las actuales instalaciones de la Planta Horcones de Arauco, incluyendo los ríos Carampangue por el sur y el río Laraquete por el norte. El diseño de la ubicación de las estaciones del presente estudio incluidas en la RCA 37/2014 consideró la obtención de muestras de agua y sedimentos en el área frente a las instalaciones de la Planta de Celulosa Arauco en el sector Horcones y en sus sectores aledaños, en dos niveles en las aguas submareales y en un nivel en las aguas intermareales, estuarinas y en los sedimentos submareales, intermareales y estuarinos.

En la Tabla 2 se entrega las coordenadas geográficas de los puntos de muestreo y en las Figuras 1 y 2 se presentan la ubicación geográfica de los puntos de muestreo de agua y sedimentos submareales, intermareales y estuarinos. Mientras que en las Tablas 3 y 4 se presentan las subcomponentes ambientales, variables y parámetros del estudio, para la componentes Agua y Sedimento.

Tabla 2. Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo para bioensayos agudos y crónicos en agua y sedimentos (submareal, intermareal y estuarino).

Estaciones de Muestreo	Coordenadas Norte	Coordenadas Este
Intermareal		
LBA-B	5.878.145	651.541
LBA-E	5.881.388	656.776
LBA-G	5.885.281	660.761
Estuario		
LBA-17	5.847.016	709.982
LBA-18	5.878.068	651.393
Submareal		
LBA-1	5.886.770	659.682
LBA-2	5.884.919	658.116
LBA-3	5.882.832	656.547
LBA-4	5.881.487	653.791
LBA-5	5.880.909	650.510
LBA-8	5.886.500	653.695
LBA-13	5.890.215	650.721
LBA-ZPL	5.881.521	656.602

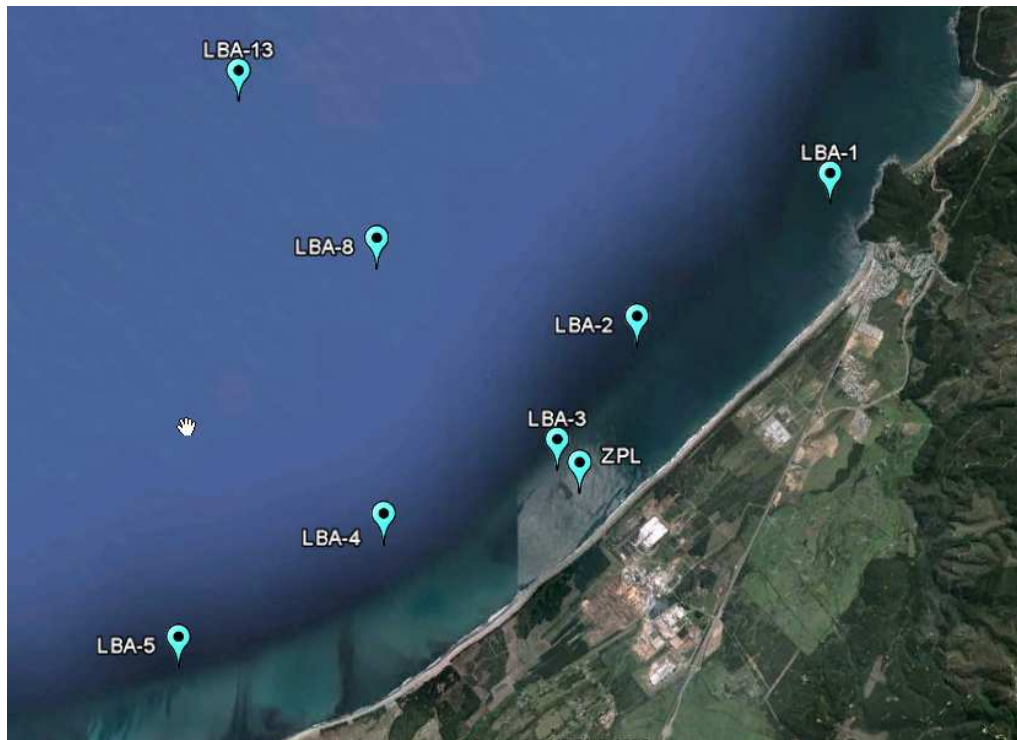


Figura 1.- Ubicación de puntos de recolección de muestras submareales de agua y sedimentos para los estudios de bioensayos agudos y crónicos en el Golfo de Arauco.

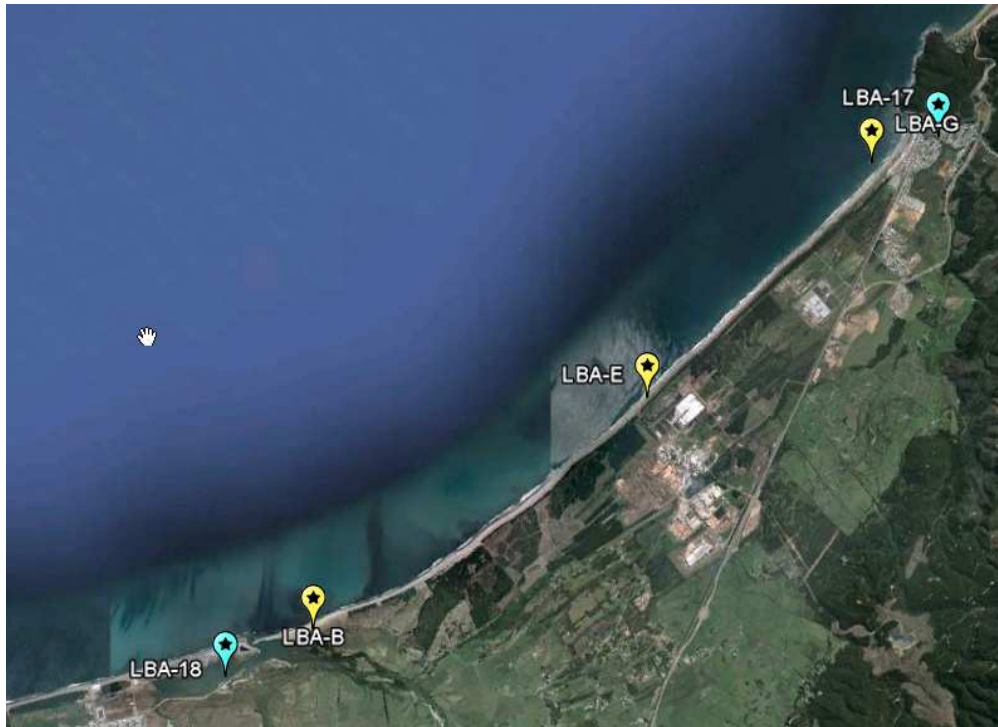


Figura 2.- Ubicación de puntos de recolección de muestras intermareales y estuarinas de agua y sedimentos para los estudios de bioensayos agudos y crónicos en el Golfo de Arauco.

Tabla 3. Subcomponentes ambientales, variables y parámetros del estudio, para la componente agua.

Subcomponente	Variable	Parámetro	Especie
Intermareal	Ecotoxicidad	Toxicidad Aguda	<i>Tisbe longicornis</i> (Sobrevivencia)
		Toxicidad crónica	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de gametos) <i>Isochrysis galbana</i> (Tasa de crecimiento)
Submareal (2 niveles, superficial y fondo)	Ecotoxicidad	Toxicidad Aguda	<i>Tisbe longicornis</i> (Sobrevivencia)
		Toxicidad crónica	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de gametos) <i>Isochrysis galbana</i> (Tasa de crecimiento)
Estuarina	Ecotoxicidad	Toxicidad Aguda	<i>Tisbe longicornis</i> (Sobrevivencia)
		Toxicidad crónica	<i>Arbacia spatuligera</i> Fecundación de gametos <i>Isochrysis galbana</i> (Tasa de crecimiento)

Tabla 4. Subcomponentes ambientales, variables y parámetros del estudio, para la componente sedimento.

Subcomponente	Variable	Parámetro	Especie
Sedimento Intermareal	Ecotoxicidad	Toxicidad Aguda	<i>Tisbe longicornis</i> (Sobrevivencia)
		Toxicidad crónica	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de gametos) <i>Isochrysis galbana</i> (Tasa de crecimiento)
Sedimento Submareal	Ecotoxicidad	Toxicidad Aguda	<i>Tisbe longicornis</i> (Sobrevivencia)
		Toxicidad crónica	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de gametos) <i>Isochrysis galbana</i> (Tasa de crecimiento)
Sedimento Estuarino	Ecotoxicidad	Toxicidad Aguda	<i>Tisbe longicornis</i> (Sobrevivencia)
		Toxicidad crónica	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de gametos) <i>Isochrysis galbana</i> (Tasa de crecimiento)

Los bioensayos agudos y crónicos se realizan considerando como criterios básicos de ejecución, los establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA (1988, 1990, 1993, 1994, 1995 y 2002), incluyendo, además metodologías utilizadas por investigadores nacionales.

4.3.- Agua de mar de Lenga (Control negativo).

El agua de mar utilizada en la dilución de los ensayos y en la realización de los ensayos controles negativo, es decir, aquellos que no producen efectos nocivos sobre los organismos ensayados, fue obtenida de un área del sector Lenga (36°45'38,7" sur y 73°10'27,2" norte).

El agua de dilución fue filtrada, a través de sistema de filtros de 0,45 μ , además de filtros de arena, los cuales permitieron por un lado eliminar el zoo y fitoplancton que puedan afectar al ensayo así como sólidos suspendidos y particulados.

El agua de dilución también reconocida como control negativo, fue utilizada en la realización de bioensayos permitiendo evaluar la calidad fisiológica de los organismos sometidos a ensayo, puesto que, esta agua no posee elementos o compuestos potencialmente tóxicos o la concentración de éstos es muy baja, como para producir un efecto negativo significativo.

4.4.- Ejecución de las diluciones

La metodología utilizada en las diluciones de la muestra problema, corresponde al método de adición complementaria, la cual consiste en tomar un volumen conocido de muestra y agregar un volumen igual de agua control negativo, manteniendo un factor de dilución de 0,5 en todas las mezclas de agua problema y agua de dilución.

Una vez extraída la cantidad de la muestra a ser ensayada, se completa el volumen con la misma cantidad de agua de dilución, con ello se mantuvo el factor de dilución de 0,5.

Cada bioensayo de toxicidad aguda y crónica, está compuesto de una batería de tubos o frascos, según sea el ensayo, que contendrá:

100% de la muestra (Muestra de agua Problema sin diluir)

50% de dilución

25% de dilución

12,5% de dilución y

6,25% de dilución.

Los resultados informados corresponden a los obtenidos en la muestra original o 100%, esto debido a que en ellas se obtuvo en su mayoría valores por sobre el 50% del efecto evaluado. En las estaciones en donde el porcentaje de la respuesta fue inferior al 50% en la muestra original, se informa el valor de CL₅₀ o CE₅₀.

4.5.- Expresión de resultados de los parámetros medidos

En los bioensayos en los cuales no fue posible, determinar experimentalmente valores de CL y CE, (debido a que los resultados evaluados se encuentran por sobre el 50% de la variable cuantificada), los resultados son expresados como porcentaje. Para el caso de los ensayos de los controles positivos los resultados se expresaron de la siguiente forma:

Parámetro	Ensayo	Especie	Efecto evaluado
CL ₅₀	Agudo	<i>Tisbe longicornis</i>	Mortalidad
CI ₅₀	Crónico	<i>Arbacia spatuligera</i>	Fecundación
CE ₅₀ , % Tasa de crecimiento	Crónico	<i>Isochrysis galbana</i>	Crecimiento celular

CL₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto agudo, en un 50% de la población muestreada, utilizada en el bioensayo. El efecto cuantificado para este parámetro es la muerte (efecto letal) de los individuos ensayados. Utilizado en bioensayos agudos.

CI₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto crónico en un 50% de la población muestreada utilizada en el bioensayo. Los efectos cuantificados para

este parámetro son subletales y se define como la inhibición de la fecundación de gametos.

CE₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto crónico en un 50% de la población muestreada utilizada en el bioensayo. Los efectos cuantificados para este parámetro son subletales y se definen como el efecto sobre el crecimiento de la población de microalgas.

Tasa de crecimiento :para el caso específico de los bioensayos con microalgas se consideró la obtención de tasa de crecimiento celular como indicador de efectos subletales o crónicos.

4.6.- Muestreo de Agua.

El agua de mar, subcomponente submareal, utilizada en la realización de los bioensayos agudos y crónicos, se obtuvo mediante una botella Van Dorn o similar, la cual fue previamente lavada con detergente neutro y enjuagado con agua destilada, varias veces. Las muestras controles se obtuvieron con una nueva botella la que tuvo el mismo tratamiento que la botella anterior, con la finalidad de evitar la potencial contaminación de éstas muestras.

Las muestras de agua fueron trasvasiadas, en botellas de vidrio, previamente lavadas con detergente neutro y varias veces enjuagadas con agua destilada. Se tuvo la precaución de cebar el recipiente antes del trasvasije. A cada botella le fue colocada una etiqueta de identificación especificada con los datos antes indicados. Las botellas fueron almacenadas en cajas termo aisladas con aislapol. En el laboratorio fueron refrigeradas a 4°C.

La obtención de las muestras de agua de mar de la subcomponente intermareal, se realizó en forma directa con botellas y manteniendo las mismas condiciones antes indicadas, tanto de rotulación como de almacenamiento.

En cada una de las estaciones, se obtuvo una muestra de agua en triplicado, teniendo presente que éstas, fueron obtenidas de lanzamientos distintos de la botella.

4.7.- Muestreo de sedimentos en las componentes y subcomponentes propuestas

La obtención de las muestras de sedimento de la componente sedimento, subcomponente submareal, se realizó mediante una draga tipo Van Veen con una superficie de mascada de 0,1 m², de acero inoxidable o recubierta con pintura epóxica. Las muestras fueron envueltas con papel alusa (metálico) e introducidas en bolsas de plástico previamente etiquetadas. Luego éstas fueron almacenadas en cajas Colleman con ice-pack activado para mantener la temperatura.

Las muestras de sedimento de la componente sedimento, subcomponente intermareal, se obtuvieron en forma directa desde las estaciones a muestrear mediante palas metálicas inoxidables o recubiertas con pintura epóxica, siguiendo el mismo procedimiento indicado para la obtención del sedimento submareal.

En cada una de las estaciones, se obtuvo una muestra de sedimento en triplicado, teniendo presente que éstas, fueron obtenidas de lanzamientos distintos de la draga.

4.8.- Preparación de las muestras de agua para los bioensayos

Las muestras de agua de las diferentes estaciones muestreadas fueron trasladadas al laboratorio de bioensayos en donde se realizaron los experimentos, siguiendo las condiciones indicadas para cada uno de los ensayos.

Los bioensayos se realizaron con la muestra al 100%, esto quiere decir sin dilución. Según sea el caso, cada muestra será diluida con agua control negativo, con la finalidad de encontrar el valor del parámetro seleccionado.

4.9.- Preparación de las muestras de sedimentos para los bioensayos

Los bioensayos con muestras de sedimento se realizaron utilizando el elutriado que será extraído previo a la ejecución del bioensayo.

Esta técnica consistió en extraer de esta componente, todos los potenciales agentes tóxicos, mediante la adición de agua control negativo. (Geffard *et al.*, 2002 y 2004)

Para ello se siguió la metodología propuesta por Nebeker, 1984 y utilizada por Sibley *et al.*, la que consistió en realizar una mezcla agua de control negativo: sedimento, con una relación 4:1, la mezcla es agitada por 8 horas, luego el sobrenadante es separado y filtrado, para separar la fracción fina del sedimento del elutriado.

El elutriado fue utilizado en los bioensayos, siguiendo las mismas reglas generales que se mencionan para planificar los ensayos con agua de mar.

4.10.- Controles negativo y positivo

Junto con la realización de los bioensayos con las muestras de agua y sedimento, se efectuó un control negativo, el cual consistió en ensayos con agua de mar y sedimento de la localidad de Lengua, este control permitió, evaluar la calidad de los organismos utilizados en los ensayos (EPA, 2002).

El control positivo o estándar, se realizó con distintos reactivos, dependiendo de la especie y respuesta medida, los que se indican en las “Condiciones experimentales y criterios de aceptación en bioensayos de toxicidad” descritas en los protocolos de metodologías de cada bioensayo en el punto 1.3.11. Estos controles se realizan con la finalidad de estandarizar los bioensayos a una respuesta conocida.

4.11.- Análisis de la información

Para cada estándar o control positivo, se calculó el valor de LC₅₀ y EC₅₀, es decir, la concentración que provoca la disminución del 50% del efecto evaluado (sobrevivencia, crecimiento celular).

Los resultados fueron evaluados ecotoxicológicamente, mediante la realización de pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y fueron graficados en función de la variable mediada para cada una de las estaciones monitoreadas.

4.12.- Protocolo de metodologías de bioensayos con especies marinas.

4.12.1.- Protocolo del bioensayo de toxicidad aguda en copépodo *Tisbe longicornis*

En este ensayo de toxicidad aguda se expusieron juveniles de *Tisbe longicornis* por 96 horas, a distintas diluciones de muestras a ensayar. Se utilizó como mínimo 10 ejemplares por réplica. Al término del bioensayo se contabilizó los individuos que no presentaron movilidad, presumiéndose su muerte. El efecto que se midió fue la mortalidad. (Soto *et al.*, 2003).

Para la realización del bioensayo se utilizó el siguiente procedimiento:

- 1.- Se marcaron los envases que se utilizaron como unidades experimentales, considerando los controles y las réplicas del agua.
- 2.- Se introdujeron 10 ml de solución del elutriado en cada envase vidrio. Cada dilución constó de 3 réplicas.
- 3.- Se introdujeron 30 individuos, diez ejemplares en cada una de las tres réplicas, por dilución.
- 4.- A las 48 horas se reemplazó la solución de prueba y se retiraron los ejemplares muertos. A las 96 horas se contabilizó el número total de muertos.

Condiciones experimentales y criterios de aceptación en bioensayos de toxicidad aguda con el copépodo *Tisbe longicornis*.

Tipo de test	Toxicidad aguda estático sin recambio
Temperatura	20±2°C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	16/8 (luz- oscuridad)
Edad de los organismos	adultos
Nº de réplicas	3 réplicas
Nº de organismos por réplica	10
Nº de organismos por concentración	30 individuos.
Aireación de la solución de prueba	No fue requerida la aireación (excepto si la concentración baja 6 mg/L de oxígeno).
Tipo de envase	Plástico
Volumen de solución	10 ml
Régimen de alimentación	No se requiere alimentación
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Tipo de Bioensayo	Agudo
Duración del bioensayo	48 horas
Recambio de las soluciones de prueba	48 horas.
Efecto medido	Mortalidad de organismos
Expresión del resultado	CI ₅₀ 96 horas
Control positivo	3, 5-diclorofenol
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Un 90 % o más de sobrevivencia en los controles

4.12.2.- Protocolo del bioensayo de toxicidad crónica de microalga *Isochrysis galbana*.

Los cultivos unialgales, en fase de crecimiento exponencial de una microalga, fueron expuestos durante 96 hrs., en un sistema de cultivo estático, a un rango de diluciones en un medio de composición definida. La respuesta de la población, medida como incremento del número celular, fue medida cada 24 hrs. Con estos parámetros se estima el crecimiento o la tasa de crecimiento relativo para cada dilución, cuando fue necesario y la inhibición de la tasa de crecimiento con respecto a un control (Gaete *et al.*, 1999).

Para la realización del bioensayo se utilizó el siguiente procedimiento:

1. Se etiquetaron matraces Erlenmeyer de 125 ml. con el número de la estación y número de réplica correspondiente.
2. Luego se calculó el volumen de inóculo algal que se agregó a cada matriz, considerando el volumen de ensayo como 50 ml y la densidad celular inicial, de 10 mil células por ml.
3. Se verificó en algún matraz, la densidad celular inicial mediante conteo.
4. Los matraces fueron puestos en la cámara de cultivo, agitándolos manualmente 2 veces al día.
5. Para realizar el conteo de las células se obtuvieron diariamente 3 ml de cultivo de cada matraz, en frascos de penicilina y se fijaron con Lugol para conteo.
6. Se calcularon las tasas de crecimiento.

Determinación de la densidad de células mediante conteo en cámaras Utermohl.

El método consiste en determinar el número de células presentes en un volumen determinado, el cual se hace decantar en una cámara Utermohl o Neubauer (cámaras de 100 uL).

Se cuentan los organismos decantados en superficies pequeñas (transectas). Estas áreas pueden ser elegidas arbitrariamente (se cuentan áreas más pequeñas en cultivos más densos). Se seleccionaron en forma estándar diez cuadrículas, como regla general.

Condiciones experimentales y criterios de aceptación en bioensayos de toxicidad crónico con microalgas.

Tipo de test	Toxicidad crónico estático
Temperatura	23° C \pm 2° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	24 horas día
Edad de cultivo	Cuatro a siete días
Nº de réplicas	3 réplicas
Nº organismos por réplica	10 mil cel/ml app
Nº organismos por dilución	30 mil cel/mel app
Densidad celular inicial	10 mil células/ml
Velocidad de agitación	Manual, discontinua.
Agua de dilución	Agua Control negativo
Tipo de envase	Vidrio
Factor de dilución	0,5
Duración del bioensayo	96 horas
Tipo de Bioensayo	Crónico
Efecto medido	Crecimiento (conteo)
Recambio de agua	No
Expresión del resultado	Tasa de crecimiento
Control positivo	Dicromato de Potasio
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Tasa de crecimiento del Control entre 0,5 y 1

4.12.3.- Protocolo de test de toxicidad crónica con *Arbacia spatuligera*:

I. Obtención de gametos:

1. Se seleccionaron 4 hembras y 4 machos adultos en condiciones saludables, los que fueron inducidos a desovar mediante a la adición de KCl 0.5N.
2. Antes de colectar los óvulos para la suspensión stock, se realizó una fecundación de prueba con óvulos de cada hembra. Se colocaron los óvulos en un portaobjeto y se agregó una gota de suspensión de espermios diluidos en agua de mar. Si al observar los óvulos, éstos están en buenas condiciones, se deberán colectar utilizando una pipeta Pasteur y para posteriormente transferirlos a un recipiente con 300 ml de agua de mar. Los óvulos fueron lavados dejándolos decantar y cambiándoles el agua tres veces, esta suspensión de óvulos permaneció a temperatura ambiente. (Zuñiga *et al.*, 1995)
3. Se observó la movilidad de los espermios, sacando muestras de cada macho y diluyéndola en agua de mar, al comprobar la movilidad de éstos, se colectaron con una pipeta Pasteur, y luego fueron puestos en un tubo de ensayo. Este stock de espermios se mantuvo seco y guardado en hielo.

II. Preparación de la suspensión de espermios:

Se diluyó la muestra stock de espermios a una concentración de $5 \cdot 10^7$ espermios por ml. para esto se usó agua de mar de dilución, luego se estimó la concentración de la muestra stock de la siguiente manera:

- 1.- Se realizaron diluciones de la muestra stock de 1:50, 1: 100, 1: 200, con agua de mar de dilución.
- 2.- Se agregó 200 µl de la muestra stock de espermios a un tubo de ensayo con 10 ml de agua de mar (tubo A). Se mezcló por inversión (la muestra deberá ser almacenada en hielo hasta su utilización en la preparación de la suspensión de espermios para el bioensayo).

- 3.- Se agregó 5 ml de la suspensión de espermios del tubo A, a un tubo de ensayo con 5 ml de agua de mar (tubo B) y se mezcló por inversión.
- 4.- Se agregó 5 ml de la suspensión de espermios del tubo B a un tubo de ensayo con 5 ml de agua de mar (tubo C). Se mezcló por inversión y se descartan 5 ml.
- 5.- Se preparó una suspensión de espermios muertos de 1:2000 y se determinó el número de espermios por ml de esa suspensión de la siguiente manera:
- 6.- Se agregó 5 ml de ácido acético al 10 % al tubo C. Se mezcló por inversión.
- 7.- Luego se agregó 1 ml del tubo C a 4 ml de agua de mar contenidos en el tubo de ensayo (tubo D) y se mezcló por inversión.
- 8.- Se agregó una alícuota del tubo D a ambos lados de la cámara Neubauer y se dejó decantar por 15 minutos.
- 9.- Se contabilizó el número de espermatozoides y se retrocalculó el número de ellos contenidos en el tubo inicial

III. Adición de espermios

Una vez conocido el número de espermatozoides contenidos en la muestra original (Tubo inicial), se realizó la dilución de éstos para obtener una concentración $5 \cdot 10^7$ espermios/ml. A cada tubo de ensayo conteniendo las muestras diluidas a probar, se le agregó 100 μ l. de la solución final de preparación de espermios.

Transcurrida una hora de exposición de los espermatozoides a la muestra problema y sus respectivas diluciones, se les agregó 2000 óvulos contenidos en 1 ml.

IV. Preparación de la suspensión de óvulos para el bioensayo:

Una vez que los óvulos fueron lavados, se preparó la suspensión de 2.000 óvulos/ml de la siguiente manera:

- 1.- A la suspensión de óvulos se agregó agua de dilución, para llevar a un volumen de 200 ml (stock de óvulos)
- 2.- Se realizó diluciones de 1: 10 del stock de óvulos:

V. La adición de óvulos a los tratamientos del bioensayo:

1. Para la adición de óvulos, se homogenizó la suspensión de esto por agitación y se le agregó 1 ml de suspensión a cada tubo (2000 óvulos/ml), utilizando una pipeta automática con boca ancha.
2. Luego se extrajo una muestra de uno de los tubos control, para monitorear la fecundación en el microscopio, registrándose el número de óvulos fertilizados.

VI. Término del bioensayo:

- 1.- Al cabo de 15 a 20 minutos, desde el momento en que se agregaron los óvulos, se observaron los óvulos que hayan sido fecundados en el control (mayor que 90%).
- 2.- Se terminó el bioensayo preservando el contenido de los tubos agregando 1 ml de formalina al 5% en agua de mar de dilución.
- 3.- Para determinar la fecundación, se transfirió una muestra del fondo de cada tubo a un portaobjeto y se observó al microscopio con aumento de 100X, luego se contabilizó 100 huevos registrándose el número de fecundados. Estos huevos se distinguieron por la presencia de una membrana de fecundación circundante.

** Para el caso con elutriado el procedimiento es el mismo, sólo se cambió la muestra de agua por elutriado

Condiciones experimentales y criterios de aceptabilidad en bioensayos con *Arbacia spatuligera*.

Tipo de test	Toxicidad crónica estático
Temperatura	20° C ±1° C
Iluminación	No requiere
Fotoperíodo	No requiere
Edad de los organismos	gametos
Nº de réplicas	3 réplicas
Nº de organismos por réplica	2000 óvulos
Nº de organismos por dilución	6000 óvulos
Aireación de la solución de prueba	El agua de dilución fue aireada antes del bioensayo, durante el experimento no fue necesario (oxígeno > 6 mg/L)
Duración del bioensayo	1 hora + 15 minutos
Tipo de envase	Tubos de ensayo de borosilicato desechables (10 ml de capacidad)
Volumen de solución	5 ml
Régimen de alimentación	No requiere
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Tipo de Bioensayo	Crónico
Duración del bioensayo	1 hora
Efecto medido	Fecundación de gametos
Expresión del resultado	EC ₅₀
Control positivo	Cobre
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Un máximo de 20% de óvulos sin fertilizar en los controles

5. RESULTADOS

5.1. Componente ambiental: Agua

5.1.1 Subcomponente: Agua Intermareal

Variable Ambiental: Ecotoxicológica

5.1.1.1. Parámetro: Toxicidad Aguda

Especie de prueba: *Tisbe longicornis* (CL₅₀)

El porcentaje de sobrevivencia de los copépodos utilizados en los bioensayos de toxicidad aguda, con las muestras de agua del intermareal, fue de 100% en las 3 muestras analizadas, lo que indica, que las muestras de agua de las estaciones monitoreadas no poseen un efecto nocivo evidenciable (Tabla 5; Figura 3). Estos resultados son similares a los observados en el periodo de línea base, Agosto 2013 y a los obtenidos en las ocho campañas anteriores, cuyos resultados de sobrevivencia coinciden con la novena campaña de Mayo 2017.

Tabla 5. Porcentaje sobrevivencia y valor de CL₅₀ de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de agua del intermareal. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B. CL ₅₀	L.B. % de Sobrevivencia	% Sobrevivencia Campaña	Valor de CL ₅₀ Campaña
LBA-G	N.D.	100	100	N.D.
LBA-E	N.D.	100	100	N.D.
LBA-B	N.D.	100	100	N.D.



Figura 3. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de agua intermareal. Campaña Mayo 2017.

5.1.1.2.- Parámetro: Toxicidad Crónica

Especie de prueba: *Arbacia spatuligera* (CI₅₀)

El porcentaje de fecundación de gametos de erizo de mar presentó un rango que fluctuó entre 81,0 % y 81,6 %, valores que no presentaron diferencias significativas entre ellas y en función del control negativo ($p > 0,05$) (Tabla 6 y Figura 4).

Los valores de fecundación cuantificados en las muestras de agua intermareal no alcanzaron niveles toxicológicos significativo, por lo que no es posible cuantificar valor de CI₅₀, siendo este de no detectado para las estaciones analizadas.

Tabla 6. Porcentaje de fecundación y valor de CI₅₀ de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de agua del intermareal. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B.CI ₅₀	L.B. % de fecundación	% de fecundación	Valor de CI ₅₀
LBA-G	N.D	> 70,0	81,6	N.D
LBA-E	N.D	> 70,0	81,0	N.D
LBA-B	N.D	> 70,0	81,3	N.D

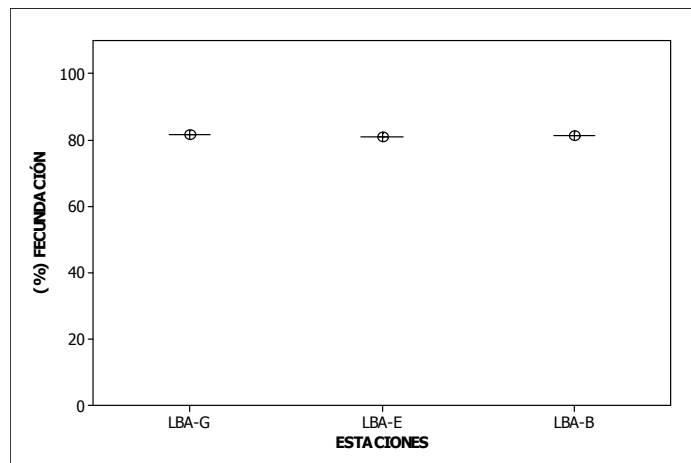


Figura 4. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de agua del intermareal. Campaña Mayo 2017.

Especie de prueba: *Isochrysis galbana* (% Crecimiento poblacional, CE₅₀)

El porcentaje de crecimiento poblacional fue del 100% en todas las estaciones. Los valores de inhibición de crecimiento poblacional cuantificados en las muestras de agua intermareal no alcanzan niveles toxicológicos significativos, por lo que no es posible cuantificar valor de CE₅₀, siendo este de No Detectado para las estaciones analizadas, sobre el organismo de prueba *Isochrysis galbana* (Tabla 7; Figura 5).

Además, no se detectaron diferencias en los resultados obtenidos en el periodo de Línea Base, (previo a la construcción, Agosto del 2013) y los observados en esta novena campaña de Mayo 2017

Tabla 7. Porcentaje de crecimiento poblacional muestreal (K) y valor de CE₅₀ de *Isochrysis galbana*, expuestos a muestras de agua del intermareal. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B. CE ₅₀	L.B. k (%)	k (%) Campaña	Valor de CE ₅₀ Campaña
LBA-G	N.D.	100,00	100,0	N.D.
LBA-E	N.D.	100,00	100,0	N.D.
LBA-B	N.D.	100,00	100,0	N.D.

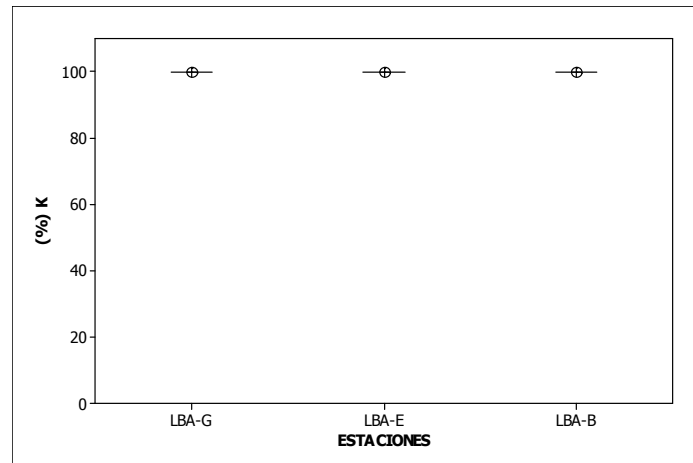


Figura 5. Porcentaje de crecimiento poblacional muestral (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de agua del intermareal, Campaña Mayo 2017.

5.1.2. Subcomponente: Agua Submareal Variable Ambiental: Ecotoxicológica

5.1.2.1. Parámetro: Toxicidad aguda

Especie de prueba: *Tisbe longicornis* (CL₅₀)

Nivel Superficial.

El porcentaje de sobrevivencia de los copépodos utilizados en los bioensayos de toxicidad aguda, con las muestras de agua submareal superficial de estaciones paralelas y perpendiculares a la costa, fue de 100%, lo que indica, que las muestras de agua de las estaciones monitoreadas no poseen un efecto nocivo evidenciable (Tabla 8).

No se detectaron diferencias en los efectos de la exposición de *Tisbe longicornis* a muestras de agua del submareal de superficie, tanto paralelas como perpendiculares a la costa, entre el periodo de línea base (previo a la construcción, Agosto del 2013) y los observados en la novena campaña en Mayo 2017. (Figura 6 y 7).

Tabla 8. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de agua submareal de Superficie. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	LB CL ₅₀	L.B. % de Sobrevivencia	% Sobrevivencia Campaña	Valor de CL ₅₀ Campaña
LBA-1	N.D.	100	100	N.D.
LBA-2	N.D.	100	100	N.D.
LBA-3	N.D.	100	100	N.D.
LBA-4	N.D.	100	100	N.D.
LBA-5	N.D.	100	100	N.D.
LBA-8	N.D.	100	100	N.D.
LBA-13	N.D.	100	100	N.D.
LBA-ZPL	N.D.	100	100	N.D.

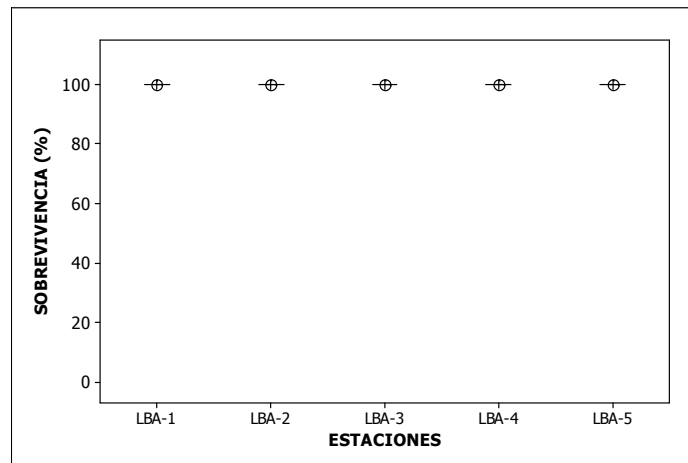


Figura 6. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de agua del submareal de superficie, de estaciones paralelas a la costa, Campaña Mayo 2017.

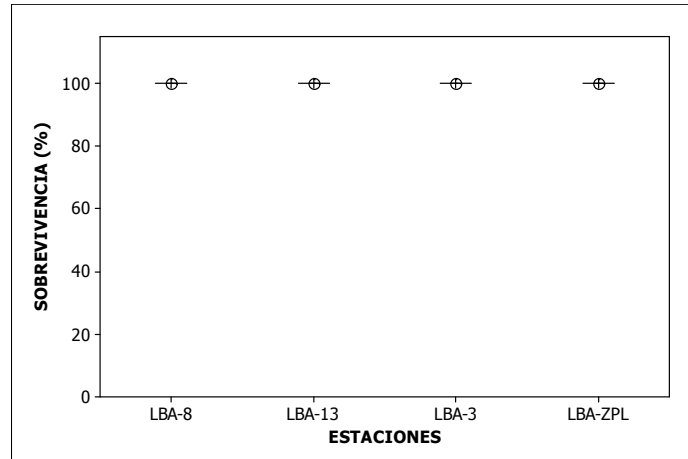


Figura 7. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de agua del submareal de superficie, de estaciones perpendiculares a la costa, Campaña Mayo 2017.

Nivel Fondo.

Dado que en la medición del periodo de Línea Base (previo a la construcción, Agosto del 2013), se evaluó solamente el estrato superior, no es posible contrastar los valores obtenidos de la exposición a las muestras de agua submareal de fondo con datos de control (Tabla 9). Sin embargo, los resultados obtenidos en la novena campaña (sobrevivencia del 100%), no muestran efecto detectable en la sobrevivencia de *Tisbe longicornis*, en estaciones paralelas y perpendiculares a la costa, lo que indica, que las muestras de agua de las estaciones monitoreadas no poseen un efecto nocivo evidenciable (Tabla 9; Figura 8 y 9).

Tabla 9: Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de agua de submareal de Fondo. L.B. Valores de Línea Base. S.I. Sin información. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B. CL ₅₀	% Sobrevivencia Campaña	Valor de CL ₅₀ Campaña
LBA-1	S.I.	100	N.D.
LBA-2		100	N.D.
LBA-3		100	N.D.
LBA-4		100	N.D.
LBA-5		100	N.D.
LBA-8		100	N.D.
LBA-13		100	N.D.
LBA-ZPL		100	N.D.

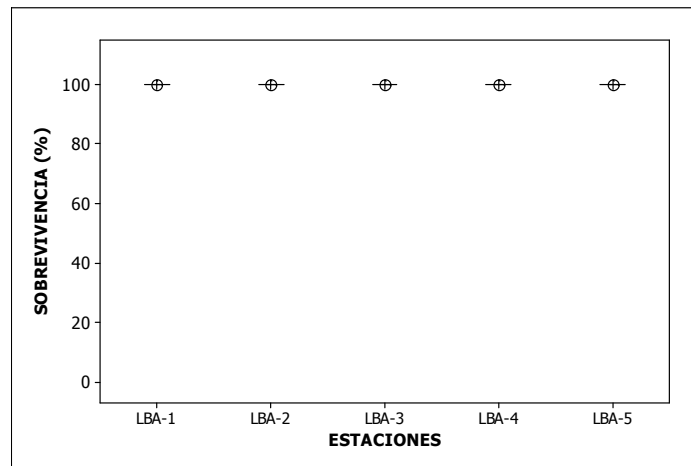


Figura 8. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de agua del submareal de fondo, de estaciones paralelas a la costa, Campaña Mayo 2017.

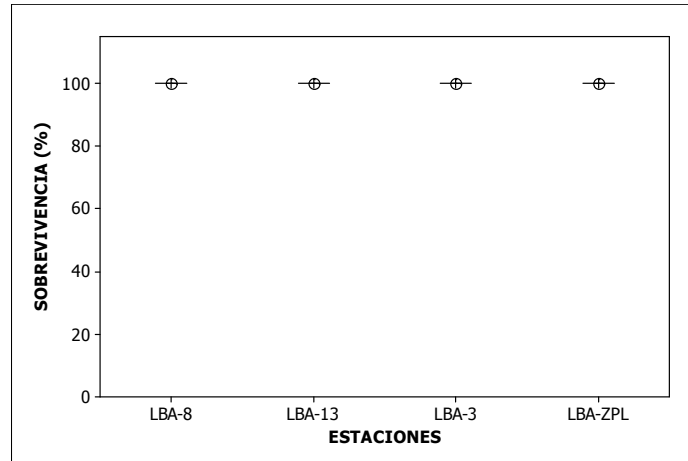


Figura 9. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de agua del submareal de fondo, de estaciones perpendiculares a la costa, Campaña Mayo 2017.

5.1.2.2- Parámetro: Toxicidad crónica

Especie de prueba: *Arbacia spatuligera* (CI₅₀)

Nivel Superficial.

El porcentaje de fecundación de gametos de erizo de mar, cuantificados en las estaciones monitoreadas, no presentaron diferencias significativas entre ellas y en función del control negativo ($p > 0,05$). Tampoco se detectó diferencias en los resultados obtenidos, entre el periodo de línea base (previo a la construcción, Agosto del 2013) y los observados en la novena campaña de Mayo 2017 (Tabla 10).

Los valores de fecundación cuantificados en las muestras de agua submareal superficial de las estaciones paralelas a la costa, oscilan entre 80,0 % y 84,6 %. Este comportamiento toxicológico no permite cuantificar efectos medios de inhibición (CI), de la fecundación (Figura. 10).

Tabla 10: Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de agua submareal de Superficie. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B.CI ₅₀	L.B. % de fecundación	% Fecundación Campaña	Valor de CI ₅₀ Campaña
LBA-1	N.D.	> 70,0	84,6	N.D.
LBA-2	N.D.	> 70,0	82,3	N.D.
LBA-3	N.D.	> 70,0	80,0	N.D.
LBA-4	N.D.	> 70,0	84,0	N.D.
LBA-5	N.D.	> 70,0	84,6	N.D.
LBA-8	N.D.	> 70,0	89,0	N.D.
LBA-13	N.D.	> 70,0	79,6	N.D.
LBA-ZPL	N.D.	> 70,0	81,6	N.D.

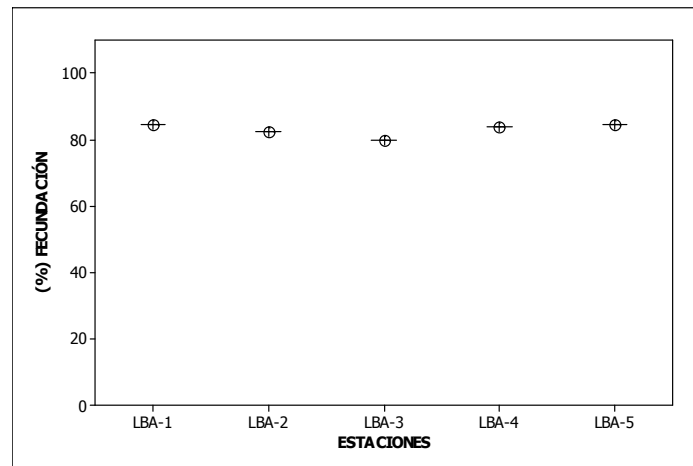


Figura 10. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de agua del submareal de superficie, de estaciones paralelas a la costa, Campaña Mayo 2017.

En las estaciones perpendiculares a la costa el porcentaje de fecundación de erizo de mar presentó valores que fluctuaron entre 79,6 % y 89,0%, los cuales no presentaron diferencias entre ellas y el control negativo.

Los valores de fecundación cuantificados en las muestras de agua submareal superficial en las estaciones perpendiculares a la costa, sobrepasan el 50%, por lo que no es posible cuantificar valor de CI, siendo este de no detectado para las estaciones analizadas (Figura 11).

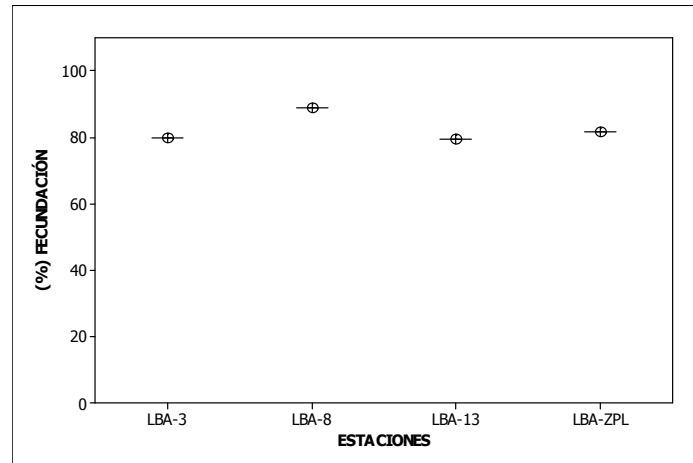


Figura 11. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de agua del submareal de superficie, de estaciones perpendiculares a la costa, Campaña Mayo 2017.

Nivel Fondo.

Dado que en la medición del periodo de Línea Base (previo a la construcción, agosto del 2013), no se diferenció en niveles de agua submareal de superficie y fondo, sino que se evaluó solamente el estrato superior, no es posible contrastar los valores obtenidos de la exposición a las muestras de agua submareal de fondo con datos de control (Tabla 11). Sin embargo, los resultados obtenidos en la novena campaña son similares a los obtenidos en campañas anteriores.

El porcentaje de fecundación de erizo de mar expuestos a agua submareal de fondo pueden verse en la Tabla 11 y corresponden a valores que no presentaron diferencias significativas entre ellas y en función del control negativo ($p > 0,05$).

Los valores de fecundación cuantificados en las muestras de agua submareal de fondo en las estaciones paralelas a la costa, presentan un rango entre 83,6% y 88,6 %. Estos valores son superiores al 50% por o que no es posible cuantificar valor de CI (Figura 12).

Tabla 11. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de agua submareal de Fondo. L.B. Valores de Línea Base S.I. Sin información. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B.CI ₅₀	% de fecundación Campaña	Valor de CI ₅₀ Campaña
LBA-1	S.I.	84,0	N.D.
LBA-2		86,3	N.D.
LBA-3		88,6	N.D.
LBA-4		87,0	N.D.
LBA-5		83,6	N.D.
LBA-8		83,6	N.D.
LBA-13		87,0	N.D.
LBA-ZPL		90,0	N.D.

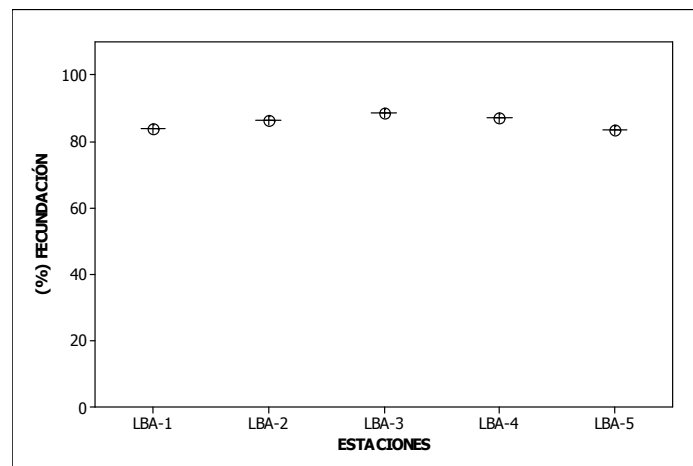


Figura 12. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de agua del submareal de fondo, de estaciones paralelas a la costa, Campaña Mayo 2017.

En las estaciones perpendiculares a la costa, el porcentaje de fecundación de erizo de mar, presentó un rango que fluctuó entre 83,6 % y 90,0 %, valores que no presentaron diferencias significativas entre ellas y el control negativo ($p > 0,05$). Estos valores no permiten calcular un CE_{50} (Figura 13).

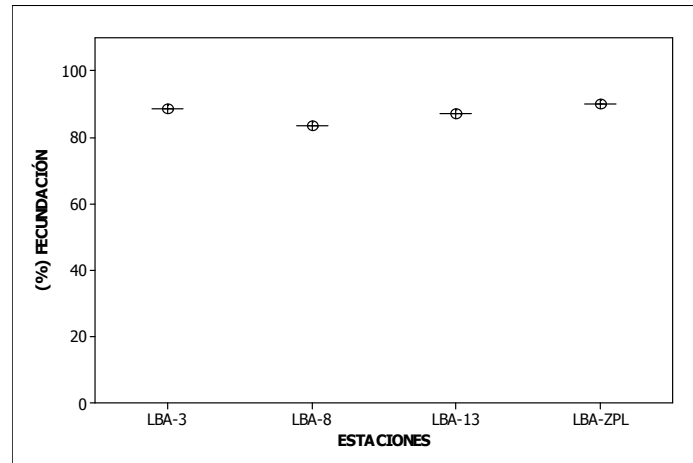


Figura 13. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de agua del submareal de fondo, de estaciones perpendiculares a la costa, Campaña Mayo 2017.

Especie de prueba: *Isochrysis galbana* (% Crecimiento poblacional, CE_{50})

Nivel Superficial.

El porcentaje de crecimiento poblacional de *I. galbana*, presentó valores, en la mayoría similares a los niveles observados en el periodo de línea base (Agosto de 2013).

En las estaciones paralelas a la costa el porcentaje de crecimiento poblacional no varió del 100 % (Figura 14). Mientras que en las estaciones perpendiculares a la costa, el porcentaje de crecimiento poblacional varió entre un 84,5% y un 100 % (Figura 15). Aunque los rangos en ambos sectores son diferentes, estas diferencias no son significativas, ni entre ellas ni con los valores del control negativo ($p > 0,05$).

Tabla 12. Porcentaje de crecimiento poblacional muestreal (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de agua del submareal de Superficie. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B.CE ₅₀	L.B. k (%)	k (%) Campaña	Valor de CE ₅₀ Campaña
LBA-1	N.D.	100,00	100,0	N.D.
LBA-2	N.D.	97,00	100,0	N.D.
LBA-3	N.D.	94,00	100,0	N.D.
LBA-4	N.D.	S.I.	100,0	N.D.
LBA-5	N.D.	97,00	100,0	N.D.
LBA-8	N.D.	100,00	100,0	N.D.
LBA-13	N.D.	71,00	84,5	N.D.
LBA-ZPL	N.D.	77,00	100,0	N.D.

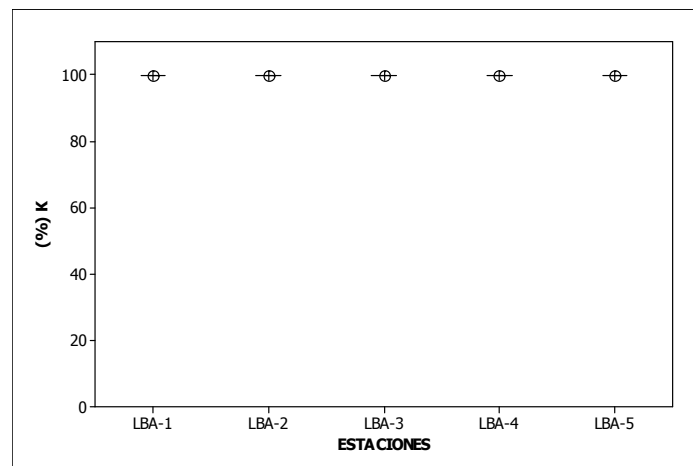


Figura 14. Porcentaje de crecimiento poblacional muestreal (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de agua del submareal de superficie, de estaciones paralelas a la costa, Campaña Mayo 2017.

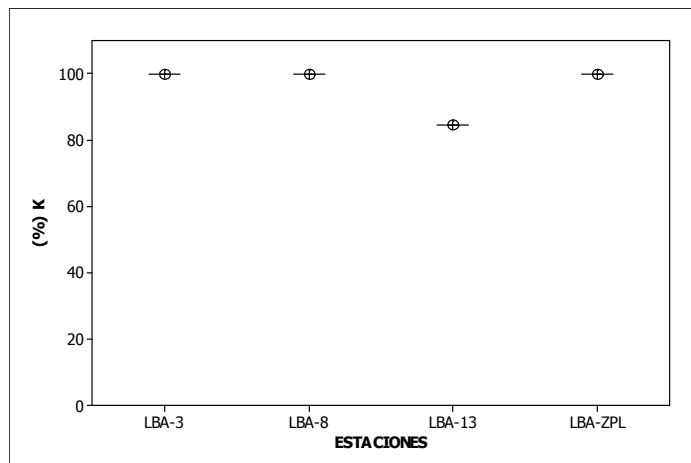


Figura 15. Porcentaje de crecimiento poblacional muestral (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de agua del submareal de superficie, de estaciones perpendiculares a la costa, Campaña Mayo 2017.

Nivel Fondo.

Como los valores de tasa de crecimiento en la población expuesta de microalgas de *I. galbana*, son superiores al 50%, para todas las muestras de prueba utilizadas, no se puede calcular valores de CE_{50} , evidenciando, un efecto toxicológico no significativo (Tabla 13). Sin embargo, a diferencia de la campaña anterior, en la cual las estaciones LBA-2 y LBA-13 presentaron valores muy por debajo del control, en esta campaña, dichas estaciones, presentaron valores por sobre el 80%, (Tabla 13; Figuras 16 y 17).

Dado que en la medición del periodo de control (previo a la construcción, Agosto del 2013), no se diferenció en niveles de agua de superficie y fondo, no es posible contrastar los valores obtenidos de la exposición a las muestras de agua submareal de fondo, con datos de control (Tabla 13). Sin embargo, los resultados obtenidos en la novena campaña son similares a los obtenidos en las campañas anteriores.

En las estaciones paralelas a la costa el porcentaje de crecimiento poblacional varía entre 88,9% y 100%, mientras que en las estaciones perpendiculares a la costa el porcentaje de crecimiento poblacional estuvo entre 82,4% y 99,2%. En ambos rangos,

no se evidencia efecto toxicológico de las muestras obtenidas de agua del submareal de fondo, sobre el parámetro analizado, por lo que no es posible calcular un valor de CE_{50} (Tabla 13; Figura 16 y 17).

Tabla 13: Porcentaje de crecimiento poblacional muestreal (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de agua del submareal de Fondo. L.B. Valores de Línea Base. S.I. Sin información. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B. CE_{50}	k (%) Campaña	Valor de CE_{50} Campaña
LBA-1	S. I.	88,9	N.D.
LBA-2		94,9	N.D.
LBA-3		90,9	N.D.
LBA-4		100,0	N.D.
LBA-5		97,7	N.D.
LBA-8		83,8	N.D.
LBA-13		82,4	N.D.
LBA-ZPL		99,2	N.D.

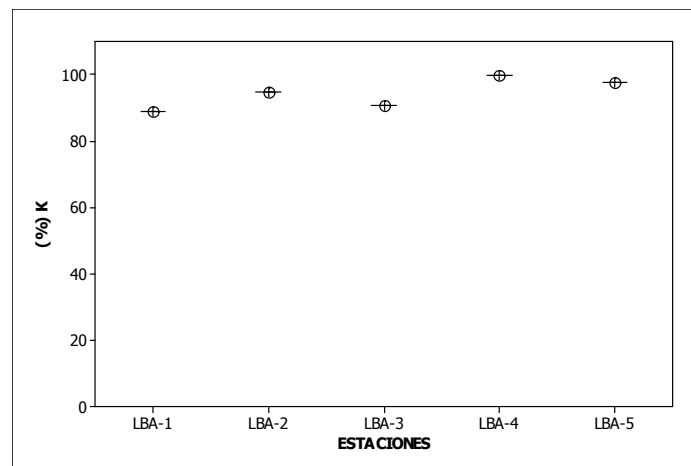


Figura 16. Porcentaje de crecimiento poblacional muestreal (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de agua del submareal de fondo, de estaciones paralelas a la costa, Campaña Mayo 2017.

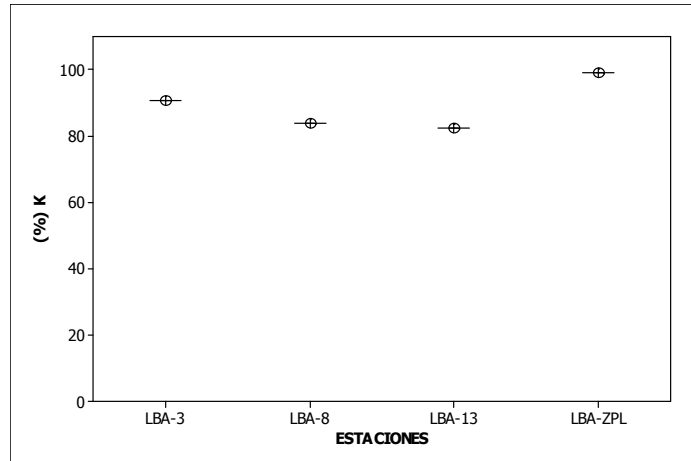


Figura 17. Porcentaje de crecimiento poblacional muestral (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de agua del submareal de fondo, de estaciones perpendiculares a la costa, Campaña Mayo 2017.

5.1.3. Subcomponente: Agua Estuarina

Variable Ambiental: Ecotoxicológica

5.1.3.1. Parámetro: Toxicidad Aguda

Especie de Prueba: *Tisbe longicornis* (CL₅₀)

El porcentaje de sobrevivencia, de los copépodos utilizados en los bioensayos de toxicidad aguda, con las muestras de agua estuarina, fue de 100%, en ambas estaciones, lo que indica que en las muestras de agua de las estaciones monitoreadas no se observa un efecto nocivo evidenciable, (Tabla 14; Figura 18).

No se detectaron diferencias en los efectos de la exposición de *Tisbe longicornis* a muestras de agua estuarina en las 2 estaciones, durante el periodo de línea base (previo a la construcción, Agosto del 2013) y los observados en la novena campaña, de Mayo 2017 (Tabla 14). En ambos casos los porcentajes de sobrevivencia alcanzados sobrepasan los mínimos requeridos para la aceptación del ensayo, por lo que son considerados como toxicológicamente no detectados.

Tabla 14. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de agua estuarina. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	LB CL ₅₀	L.B % Sobrevivencia	% Sobrevivencia Campaña	Valor de CL ₅₀ Campaña
LBA-17	N.D.	100	100	N.D.
LBA-18	N.D.	100	100	N.D.

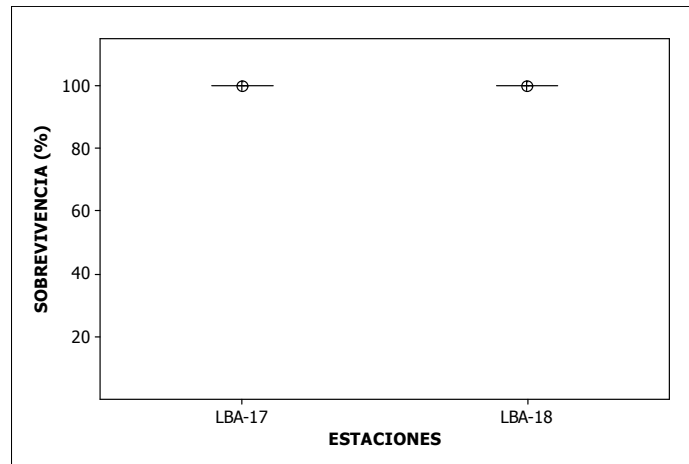


Figura 18. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de agua estuarina, Campaña Mayo 2017.

5.1.3.2.- Parámetro Ambiental: Toxicidad crónica

Especie de prueba: *Arbacia spatuligera* (CI₅₀)

El porcentaje de fecundación de erizo de mar fue de 87,7 % y 89,0 %, para las estaciones LBA-17 y LBA-18, respectivamente, valores que no presentaron diferencias en función del control negativo ($p > 0,05$) y que no muestran efecto toxicológico significativo (Tabla 15, Figura 19).

No se detectaron diferencias en el efecto a la exposición de gametos de *Arbacia spatuligera*, entre muestras de agua estuarina de las 2 estaciones, durante el periodo de línea base (previo a la construcción, Agosto del 2013) y los observados en la novena

campaña de Mayo 2017 (Tabla 15). En ambos casos, los porcentajes de fecundación alcanzados, sobrepasan los mínimos requerido para cuantificar efecto de inhibición significativo (50%), por lo que son considerados como toxicológicamente no detectados.

Tabla 15. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de agua estuarina. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B. CI ₅₀	L.B. % de fecundación	% de fecundación Campaña	Valor de CI ₅₀ Campaña
LBA-17	N.D.	> 70,0	87,7	N.D.
LBA-18	N.D.	> 70,0	89,0	N.D.

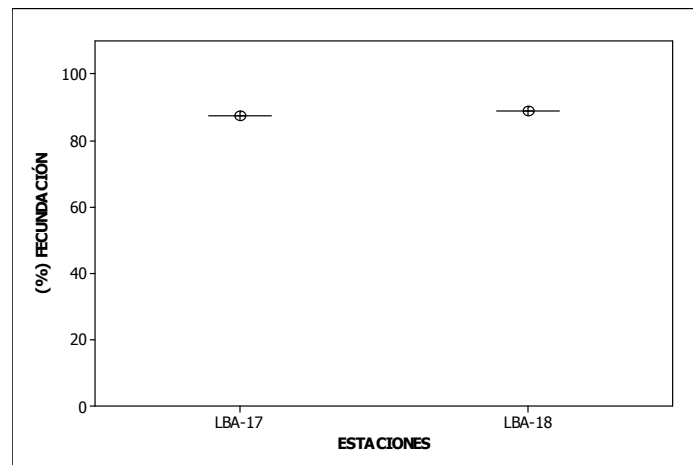


Figura 19. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de agua estuarina, Campaña Mayo 2017.

Especie de prueba: *Isochrysis galbana* ((% Crecimiento poblacional, CE₅₀)

No se observaron diferencias estadísticas significativas, entre los resultados de las tasa de crecimiento (Tabla 16), en ambas estaciones y en función del control negativo ($p > 0,05$). Los valores de crecimiento poblacional cuantificados en las muestras de agua

estuarina no alcanzan niveles toxicológicos significativos, por lo que no es posible cuantificar valor de CE, siendo este de No Detectado para las estaciones analizadas, sobre el organismo de prueba *Isochrysis galbana*.

No se detectaron diferencias en los efectos de la exposición de *Isochrysis galbana* a muestras de agua estuarina en las 2 estaciones, durante el periodo de línea base (previo a la construcción, Agosto del 2013) y los observados en la novena campaña de Mayo del 2017 (Tabla 16; Figura 20). En ambos casos, los porcentajes de crecimiento poblacional alcanzados, sobrepasan los mínimos requerido para la cuantificación de efecto significativo, por lo que son considerados como toxicológicamente no detectados.

Tabla 16. Porcentaje de crecimiento poblacional muestral (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de agua estuarina. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	LB CI ₅₀	L.B k (%)	k (%) Campaña	Valor de CE ₅₀ Campaña
LBA-17	N.D.	100,00	98,8	N.D.
LBA-18	N.D	100,00	98,3	N.D.

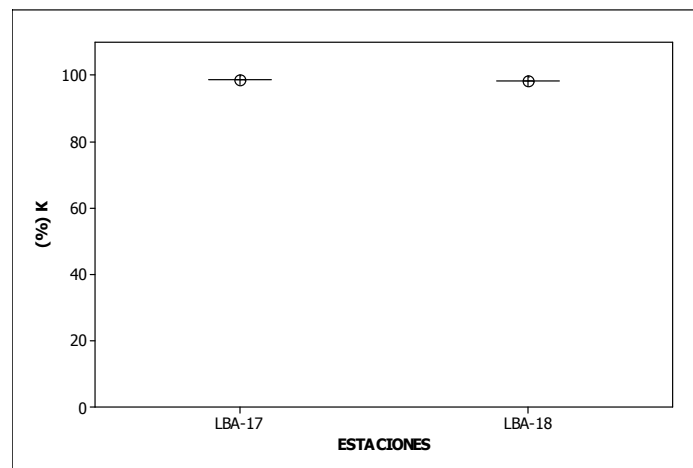


Figura 20. Porcentaje de crecimiento poblacional muestral (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de agua estuarina, Campaña Mayo 2017.

5.2.- Componente Ambiental: Sedimento

5.2.1. Subcomponente: Sedimento Intermareal

Variable Ambiental: Ecotoxicología

5.2.1.1.- Parámetro: Toxicidad Aguda.

Especie de prueba: *Tisbe longicornis* (CL₅₀)

El porcentaje de sobrevivencia, de los copépodos utilizados en los bioensayos de toxicidad aguda, con las muestras de elutriado de sedimento intermareal fue de 100%, en las 3 estaciones monitoreadas, lo que indica, que éstas no poseen un efecto nocivo evidenciable sobre la especie de prueba (Tabla 17; Figura 21).

No se detectó diferencias en los efectos de la exposición de *Tisbe longicornis* a muestras de elutriado de sedimento intermareal en las 3 estaciones, durante el periodo de línea base, Agosto del 2013 y los observados en esta novena campaña de Mayo 2017. Tampoco se observa diferencia en relación a los resultados obtenidos para este bioensayo en las campañas anteriores.

Tabla 17. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de elutriado de sedimento del intermareal. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B. CL ₅₀	L.B. % Sobrevivencia	% Sobrevivencia Campaña	Valor de CL ₅₀ Campaña
LBA-B	N.D.	100	100	N.D.
LBA-E	N.D.	100	100	N.D.
LBA-G	N.D.	100	100	N.D.

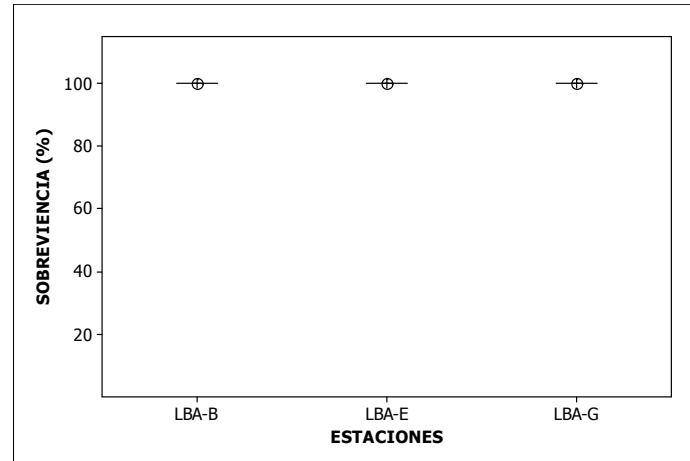


Figura 21. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de elutriado de sedimento del intermareal, Campaña Mayo 2017.

5.2.1.2. Parámetro: Toxicidad crónica

Especie de prueba: *Arbacia spatuligera* (CI₅₀)

El porcentaje de fecundación de erizo de mar, las estaciones monitoreadas, varió entre 78,3 % y 96,3 % valores que no evidencian efecto toxicológico significativo (Tabla 18; Figura 22).

No se detectaron diferencias en los efectos de la exposición de gametos de *Arbacia spatuligera* a muestras de elutriado de sedimento intermareal en las 3 estaciones, durante el periodo de línea base, Agosto del 2013 y los observados en la novena campaña de Mayo 2017 (Tabla 22).

Tabla 18. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de elutriado de sedimento intermareal. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B. CI50	L.B. % de fecundación	% de fecundación Campaña	Valor de CI50 Campaña
LBA-B	N.D.	> 70,0	78,3	N.D.
LBA-E	N.D.	> 70,0	96,3	N.D.
LBA-G	N.D.	> 70,0	95,3	N.D.

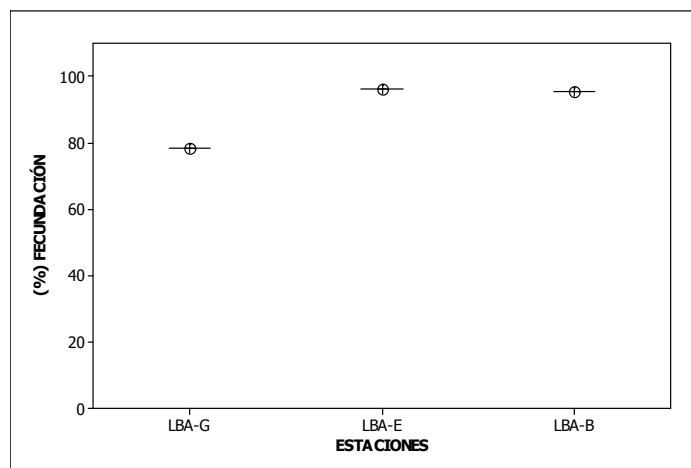


Figura 22. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de elutriado de sedimento del intermareal, Campaña Mayo 2017.

Especie de prueba: *Isochrysis galbana* ((% Crecimiento poblacional, CE₅₀)

No se observó diferencias significativas, entre los resultados de las tasas de crecimiento, en las estaciones y el control negativo ($p > 0,05$). No se observó inhibición del crecimiento de la población expuesta de microalgas por debajo del 50%, por lo que no se pudo calcular valores de CE₅₀ (Tabla 19; Figura 23).

No se detectó diferencias en los efectos de la exposición de *Isochrysis galbana* a muestras de elutriado de sedimento intermareal en las 3 estaciones, durante el periodo de línea base, Agosto del 2013 y los observados en la novena campaña de Mayo de 2017.

Tabla 19. Porcentaje de crecimiento poblacional muestral (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de elutriado de sedimento intermareal. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	LB CE ₅₀	L.B. k (%)	k (%) Campaña	Valor de CE ₅₀ Campaña
LBA-G	N.D.	100,00	80,50	N.D.
LBA-E	N.D.	100,00	59,60	N.D.
LBA-B	N.D.	87,00	100,00	N.D.

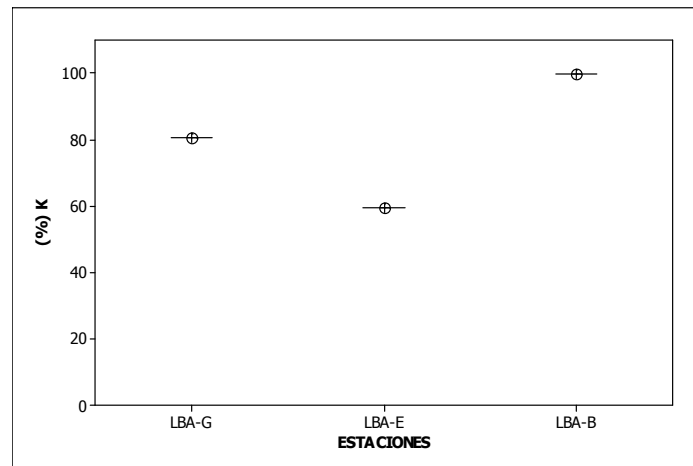


Figura 23. Porcentaje de crecimiento poblacional muestral (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de elutriado de sedimento del intermareal, Campaña Mayo 2017.

5.2.2. Subcomponente: Sedimento Submareal

Variable Ambiental: Ecotoxicológica

5.2.2.1. Parámetro: Toxicidad Aguda

Especie de prueba: *Tisbe longicornis* (CL₅₀)

El porcentaje de sobrevivencia de los copépodos utilizados en los bioensayos de toxicidad aguda, con las muestras de elutriado de sedimento submareal, de estaciones paralelas y perpendiculares a la costa, fue de 100%, en todas las estaciones, no detectándose efecto toxicológico sobre los organismos de prueba (Tabla 20; Figura 24 y 25).

No se detectaron diferencias en los efectos de la exposición de *Tisbe longicornis* a muestras de elutriado de sedimento submareal, de las 8 estaciones monitoreadas en el periodo de línea base (Agosto del 2013) y los observados en la novena campaña de Mayo 2017 (Tabla 20).

Tabla 20. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de elutriado de sedimento submareal. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	LB CL ₅₀	L.B. % sobrevivencia	% Sobrevivencia Campaña	Valor de CL ₅₀ Campaña
LBA-1	N.D.	100	100	N.D.
LBA-2	N.D.	100	100	N.D.
LBA-3	N.D.	100	100	N.D.
LBA-4	N.D.	100	100	N.D.
LBA-5	N.D.	100	100	N.D.
LBA-8	N.D.	100	100	N.D.
LBA-13	N.D.	100	100	N.D.
LBA-ZPL	N.D.	100	100	N.D.

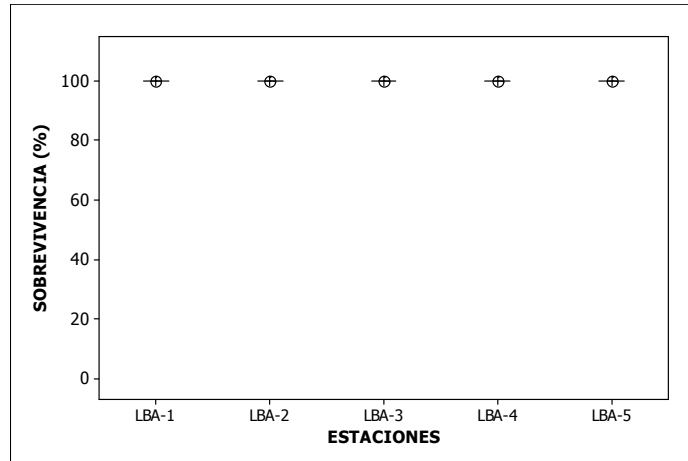


Figura 24. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de elutriado de sedimento submareal, de estaciones paralelas a la costa, Campaña Mayo 2017.

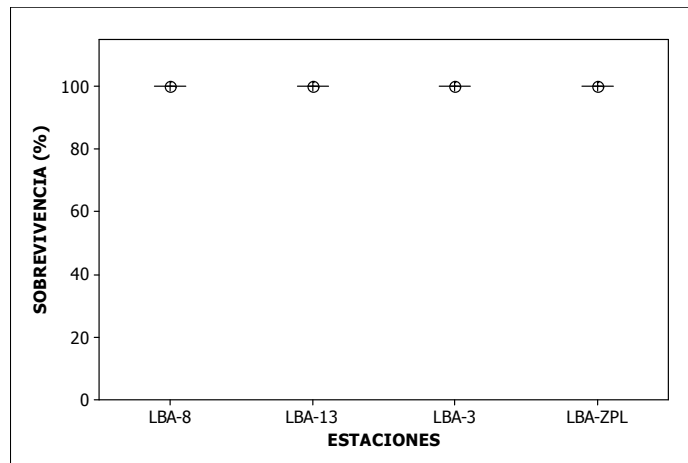


Figura 25. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de elutriado de sedimento submareal, de estaciones perpendiculares a la costa, Campaña Mayo 2017.

5.2.2.2.- Parámetro: Toxicidad Crónica

Especie de prueba: *Arbacia spatuligera* (CI₅₀)

El porcentaje de fecundación de gametos de erizo de mar, expuesto a muestras de elutriado de submareal, considerando todas las estaciones, presentó un rango que fluctuó entre 39,9% y 84,0 % (Tabla 21; Figura 26 y 27).

En la presente campaña, a diferencia de todas las anteriores, se observó diferencias significativas en los efectos de la exposición de gametos de *Arbacia spatuligera* a muestras de elutriado de sedimento submareal, específicamente en la estación LBA-2, donde se encontró un valor de CI₅₀ de 84,41%, es decir, para esta estación existe efecto toxicológico significativo.

En el resto de las estaciones paralelas, los valores de fecundación cuantificados en las muestras de elutriado de sedimento submareal, no presentan efecto toxicológico que permite calcular un CI significativo, encontrándose, sin embargo, valores de fecundación por debajo del promedio de Línea Base en 3 de ella (LBA-1, LBA-3 y LBA-5) (Figuras 26).

En las estaciones perpendiculares a la costa, también hay estaciones con valores de fecundación, por debajo del promedio de Línea Base, pero sin efecto toxicológico detectado (Figura 27)

Tabla 21 Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de elutriado de sedimento submareal. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B.CI50	L.B. % de fecundación	% Fecundación Campaña	Valor de CI50 Campaña
LBA-1	N.D.	> 70,0	65,3	N.D.
LBA-2	N.D.	> 70,0	39,0	84,41%
LBA-3	N.D.	> 70,0	59,3	N.D.
LBA-4	N.D.	> 70,0	81,3	N.D.
LBA-5	N.D.	> 70,0	50,5	N.D.
LBA-8	N.D.	> 70,0	52,6	N.D.
LBA-13	N.D.	> 70,0	84,0	N.D.
LBA-ZPL	N.D.	> 70,0	69,3	N.D.

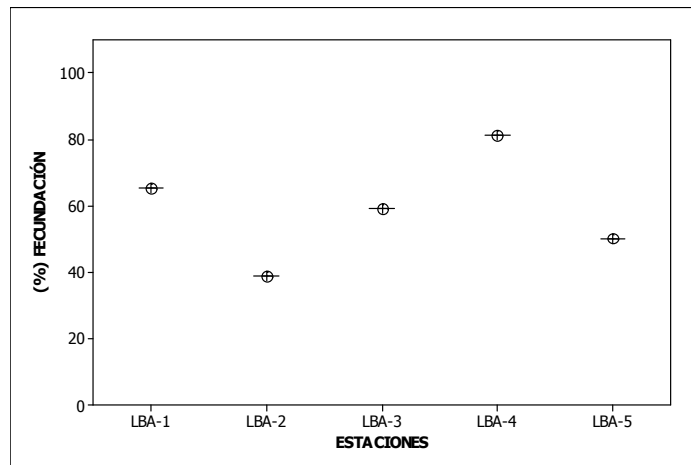


Figura 26. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de elutriado de sedimento submareal, de estaciones paralelas a la costa, Campaña Mayo 2017.

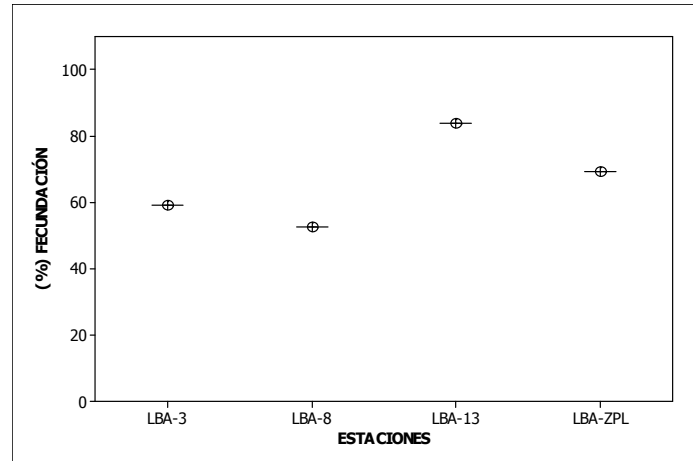


Figura 27. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de elutriado de sedimento submareal, de estaciones perpendiculares a la costa, Campaña Mayo 2017.

Especie de prueba: *Isochrysis galbana* ((% Crecimiento poblacional, CE₅₀)

No se observaron diferencias significativas, entre los resultados de las tasas de crecimiento, para las diferentes estaciones y el control negativo ($p > 0,05$). No se observó inhibición en crecimiento de la población expuesta de microalgas por debajo del 50%, por lo que no se pudo calcular valores de CE₅₀. (Tabla 22; Figura 28 y 29)

El porcentaje de crecimiento poblacional varía entre 55,1% y 100 % en las distintas estaciones monitoreadas. Tampoco se encontró diferencias entre el periodo de línea base, Agosto del 2013 y los observados en esta novena campaña de Mayo del 2017.

Tabla 22. Porcentaje de crecimiento poblacional muestreal (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de elutriado de sedimento submareal. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017 SI: Sin información.

Estación	L.B.CE ₅₀	L.B. k (%)	k (%) Campaña	Valor de CE ₅₀ Campaña
LBA-1	N.D.	97,00	100,0	N.D.
LBA-2	N.D.	100,00	55,1	N.D.
LBA-3	N.D.	SI	93,0	N.D.
LBA-4	N.D.	100,00	96,2	N.D.
LBA-5	N.D.	100,00	100,0	N.D.
LBA-8	N.D.	96,00	100,0	N.D.
LBA-13	N.D.	100,00	100,0	N.D.
LBA-ZPL	N.D.	86,00	100,0	N.D.

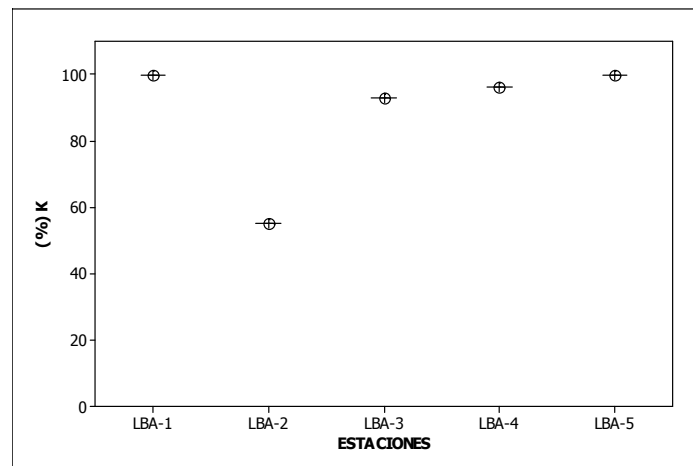


Figura 28. Porcentaje de crecimiento poblacional muestreal (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de elutriado de sedimento submareal, de estaciones paralelas a la costa, Campaña Mayo 2017.

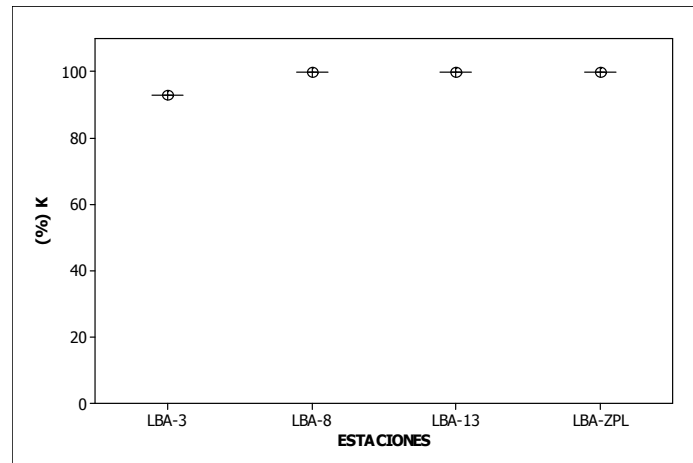


Figura 29. Porcentaje de crecimiento poblacional muestral (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de elutriado de sedimento submareal, de estaciones perpendiculares a la costa, Campaña Mayo 2017.

5.2.3. Subcomponente: Sedimento Estuarino

Variable Ambiental: Ecotoxicológica

5.2.3.1. Parámetro: Toxicidad Aguda

Especie de prueba: *Tisbe longicornis* (CL₅₀)

El porcentaje de sobrevivencia de los copépodos utilizados en los bioensayos de toxicidad aguda, con las muestras de elutriado de sedimento estuarino, fue de 100%, en las 2 estaciones probadas, lo que indica, que las muestras de las estaciones monitoreadas no poseen un efecto nocivo evidenciable, para esta especie. (Tabla 23; Figura 30).

No se detectaron diferencias en los efectos de la exposición de *Tisbe longicornis* a muestras de elutriado de sedimento estuarino entre los resultados de las 2 estaciones monitoreadas, durante el periodo de línea base, Agosto del 2013 y los observados en la novena campaña de Mayo 2017.

Tabla 23. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de elutriado de sedimento estuarino. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	LB CL ₅₀	L.B. %Sobrevivencia	% Sobrevivencia Campaña	Valor de CL ₅₀ Campaña
LBA-17	N.D.	100	100	N.D.
LBA-18	N.D.	100	100	N.D.

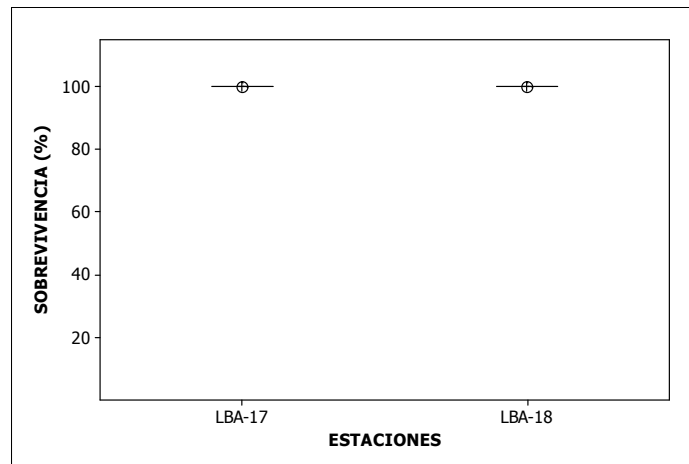


Figura 30. Porcentaje de sobrevivencia de *Tisbe longicornis* expuestos a muestras de elutriado de sedimento estuarino, Campaña Mayo 2017.

5.2.3.2. Parámetro: Toxicidad Crónica

Especie de prueba: *Arbacia spatuligera* (CI₅₀)

El porcentaje de fecundación de gametos de erizo de mar presentó valores de 50,3 % y 52,3 %, los cuales, aun siendo más bajos que el promedio encontrado en el periodo de Línea Base, para igual matriz, son superiores al 50%, valor mínimo requerido para cuantificar un efecto toxicológico significativo.

No se detectaron diferencias en los efectos de la exposición de gametos de *Arbacia spatuligera* a muestras de elutriado de sedimento estuarino entre los resultados de las 2

estaciones muestreadas durante el periodo de línea base, Agosto del 2013 y los observados en la novena campaña de Mayo 2017 (Tabla 24; Figura 31).

Tabla 24. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de elutriado de sedimento estuarino. L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	L.B.CI ₅₀	L.B. % de fecundación	% fecundación Campaña	Valor de CI ₅₀ Campaña
LBA-17	N.D.	> 70,0	52,3	N.D.
LBA-18	N.D.	> 70,0	50,3	N.D.

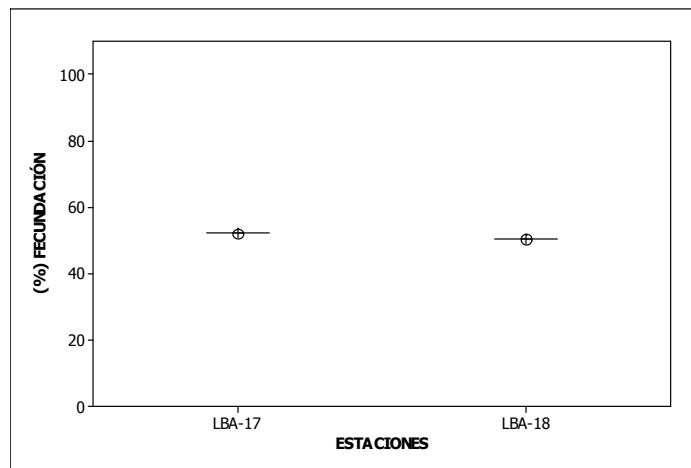


Figura 31. Porcentaje de fecundación de gametos de *Arbacia spatuligera* expuestos a muestras de elutriado de sedimento estuarino, Campaña Mayo 2017.

Especie de prueba: *Isochrysis galbana* (% Crecimiento poblacional, CE₅₀)

No se observaron diferencias, entre los resultados de las tasa de crecimiento, para las diferentes estaciones y en función del control negativo ($p > 0,05$). No se observó un decrecimiento significativo en la población expuesta de microalgas, por lo que no se pudo calcular valores de CE₅₀.

El porcentaje de crecimiento poblacional alcanzó valores de 88,5% y de 100 %, lo cual indica que no hay efecto toxicológico de las muestras obtenidas de elutriado de sedimento estuarino, sobre el parámetro evaluado (Tabla 25; Figura 32).

No se detectaron diferencias en los efectos de la exposición de *Isochrysis galbana* a muestras de elutriado de sedimento estuarino entre las 2 estaciones monitoreas durante el periodo de línea base, Agosto del 2013 y los observados en la novena campaña de Mayo 2017 (Tabla 25).

Tabla 25. Porcentaje de crecimiento poblacional muestral (K) de *Isochrysis galbana* expuesta a muestras de elutriado de sedimento estuarino . L.B. Valores de Línea Base. Campaña Mayo 2017.

Estación	LB CE ₅₀	L.B. k (%)	k (%) Campaña	Valor de CE ₅₀ Campaña
LBA-17	N.D.	100,00	100,00	N.D
LBA-18	N.D.	100,00	88,50	N.D.

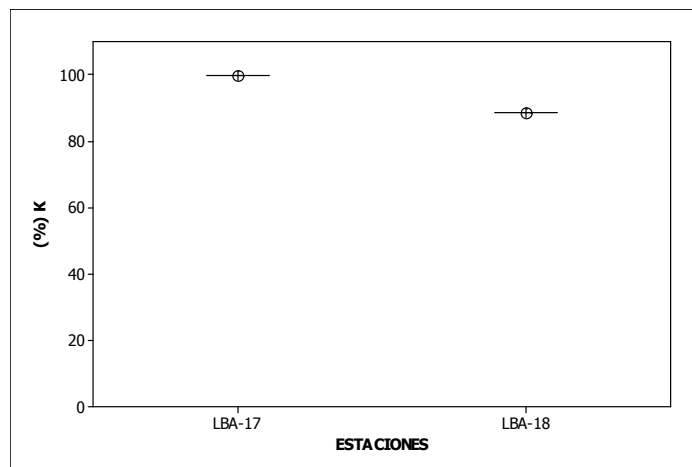


Figura 32. Porcentaje de crecimiento poblacional muestral (K) de *Isochrysis galbana* expuestos a muestras de elutriado de sedimento estuarino, Campaña Mayo 2017.

6.-DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio, campaña de Mayo 2017, de las componentes ambientales Agua y Sedimento, en sus subcomponentes intermareal, submareal y estuario, en cuanto a la variable ecotoxicidad (aguda y crónica), del área de estudio ubicada en el sector costero, entre Laraquete y Carampangue, permiten evaluar su estado en la novena campaña del monitoreo en la etapa de construcción y compararlo con el estado inicial o de Línea Base (CREA, 2013).

Para esta campaña, Mayo 2017, en general, no se observó efecto toxicológico significativo, en las componentes y estaciones muestreadas, para las especies de prueba utilizadas, excepto en la componente sedimento submareal, estación LBA-2 para la especie *Arbacia spatuligera*, donde se encontró valor de CI_{50} de 84,41 %, lo que se diferencia de los resultados del estudio de Línea Base del 2013, en el cual no se encontró toxicidad en ninguna de las componentes, estaciones o especies.

Para las demás estaciones monitoreadas, en la misma componente y especie, se cuantificó valores de fecundación, por debajo de los valores promedio de estudio de Línea Base, sin embargo como valor de exposición evaluado (CI), no se observó diferencias con los encontrados en ésta.

Tanto el valor significativo de CI para el ensayo de fecundación de *A. spatuligera*, como los bajo valores cuantificados en las restantes estaciones, sin ser significativos desde el punto de vista toxicológico, deben ser contrastados, en futuras campañas con la finalidad de evaluar las tendencias en la toxicidad de la componente evaluada.

La fiabilidad de la comparación está basada en técnicas que regulan tanto la toma y manejo de muestras, como la realización de los bioensayos agudos y crónicos. En Chile, no existen normas oficiales que regulen bioensayos con los organismos marinos utilizados en el presente estudio, sin embargo, este laboratorio valida sus técnicas de acuerdo a Normas de Estandarización Internacional (ISO 10253, ISO 14669) más los

criterios establecidos por la agencia de protección ambiental de Estados Unidos (US EPA 1988, 1990, 1993, 1994, 1995 y 2002).

7.- CONCLUSIONES

- No se evidenció efecto tóxico agudo significativo para las muestras de agua y sedimento, obtenidas en las estaciones de las subcomponentes intermareal, submareal y estuario, evidenciándose valores de no detectado (N.D.), para todas las muestras analizadas y para todas las especies utilizadas.
- Se evidenció efecto tóxico crónico significativo en las muestras de sedimento submareal, obtenido en la estación LBA-2, para la especie *Arbacia spatuligera* encontrando valor de $CI_{50} = 84,41$ % del parámetro porcentaje de fecundación. Sin embargo, no se evidenció efecto tóxico crónico significativo en las muestras de agua y sedimento, obtenidas en las estaciones de las subcomponentes intermareal, submareal y estuario, evidenciándose valores de no detectado (N.D.), para ninguna otra de las muestras analizadas, esto considerando el resto de las especies de prueba utilizadas en el presente estudio.
- De acuerdo a los resultados de los bioensayos agudos y crónicos realizados en las componentes ambientales agua y sedimento, en sus subcomponentes intermareal, submareal y estuarina, en las estaciones monitoreadas, se debe señalar que la calidad de las muestras analizadas, no presenta efectos en los sectores evaluados y especies evaluadas, excepto en la estación LBA-2 componente sedimento submareal para la especie *Arbacia spatuligera*.
- De acuerdo a los resultados de los bioensayos agudos y crónicos realizados en las componentes ambientales agua y sedimento, en sus subcomponentes intermareal, submareal y estuarina, en las estaciones monitoreadas y comparados con los resultados obtenidos en el estudio de línea base, (Agosto, 2013), se debe señalar que no se encontró diferencias con respecto a la condición inicial del área de estudio en cuanto a la calidad toxicológica en general, siendo la

excepción para esta campaña los resultados obtenidos para las muestras analizadas correspondiente a la estación LBA-2, sedimento submareal, para la especie *Arbacia sputuligera*, que presentó toxicidad.

- De acuerdo a los resultados obtenidos los bioensayos de toxicidad aguda y crónica, permiten obtener resultados confiables y reproducibles, asegurando criterios de calidad, que permiten una evaluación y comparación consistentes, tanto en el espacio como en el tiempo.

8.- BIBLIOGRAFÍA

- CREA, (2013).Informe Técnico. “Realización de bioensayos de toxicidad aguda y crónica con muestra de agua y sedimento, del ambiente intermareal y submareal del Golfo Arauco”. Universidad católica de la Santísima Concepción. Concepción.
- Gaete H, A Larraín, J Baeza, J Rodriguez & E Bay-Schmith (1999) Efecto de aguas receptoras de efluentes de industrias de celulosa localizadas en la cuenca del río Bio-Bio (Chile, central.) sobre la tasa de crecimiento de la microalga *Selenastrum capricornutum* y reproducción del cladóceros *Daphnia pulex*. Revista de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Serie Ciencias del Mar 5: 19-29.
- Geffard O, H Budzinski, E His, N Matthias & P. Garrigues (2002a) Relationships between contaminant levels in marine sediments and their biological effects on embryos of oysters, *Crassostrea gigas*. Environ. Toxicol. and Chemistry 21 (11): 2310-2318.
- Geffard O, H Budzinski & E His (2002b) The effects of elutriate from PAH and heavy metal polluted sediments on *Crassostrea gigas* (Thunberg) embryogenesis, larval growth and bio- accumulation by the larvae of pollutants from sedimentary origin. Ecotoxicology 11 (6): 403-416.
- Geffard O, H Budzinski & E His (2004) The effects of decanted sediments on embryogenesis in oysters (*Crassostrea gigas*). Environ. Toxicol. and Chemistry. Vol 23: 1655-1661.

- ISO, 10253. (2006). Water Quality. Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*. International Standard ISO.
- ISO, 14669. (1999). Water Quality. Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea). International Standard ISO.
- Larraín A. (1995) Criterios ecotóxicológicos para evaluar alteraciones ambientales y establecer parámetros de control: Importancia de los bioensayos de toxicidad. Cienc. Tec. Mar. CONA. 39-47.
- Nebeker, A., Cairns, M., Gakstatter, J. Malueg, K. Schuytema, G. & Krawczyk, D. (1984) Biological methods for determining toxicity of contaminated freshwater sediments to invertebrates. Environmental Toxicology and Chemistry Volume 3, Issue 4, pages 617–630.
- Sibley P, D Legler, D Dixon & D Barton (1997) Environmental health assessment of the benthic habitat adjacent to a pulp mill discharge. I. Acute and Chronic toxicity of sediments to benthic macroinvertebrates. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 32, 274-284.
- Soto E, G Oyarce, B Inzunza & E Bay-Schmith (2003) Acute toxicity of organic and inorganic compounds on the freshwater cyclopoid copepod *Eucyclops neumani* *neumani* (Pesta, 1927). Bull Environ Contam Toxicol 70:1017-1021.
- US EPA (1988) Short- term Methods for estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and Estuarine Organisms. Office of Research and Development. Cincinnati, Ohio 45268. pp 417.
- US EPA (1990) Biological test methods: Reference method for determining acute lethality of effluents to rainbow trout. Canada. pp 20.
- US EP (1993) Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Office of Research and development. Cincinnati. Ohio 45268. pp 417.
- US EPA (1995) Short-Term Methods for estimating the Chronic Toxicity of effluents and Receiving waters to marine and estuarine organism. Office of Research and development. Cincinnati. Ohio 45268. pp 417.

US EPA (2002a) Short-Term Methods for estimating the Chronic Toxicity of effluents and Receiving waters to marine and Estuarine organism. Office of Research and development. Cincinnati. Ohio 45268. pp 417.

US EPA (2002b) Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Office of Research and development. Cincinnati. Ohio 45268. pp 417.

Zuñiga M, R Roa & Larraín (1995) Sperm cell bioassay with the sea urchin *Arbacia spatuligera* on samples from two polluted Chilean coastal. *Mar. Poll. Bull.* 30(5), 313-319.

ANEXO I

CERTIFICADOS DE BIOENSAYOS



INFORME N°: CREA-58-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Aguda
Especie utilizada:	<i>Tisbe longicornis</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	AGUA INTERMAREAL
Efecto Medido:	Mortalidad
	CL₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto agudo de mortalidad, en un 50% de la población muestreada, utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Tisbe longicornis*

Variable	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	16/8 (luz/oscuridad)
Edad de los organismos	adultos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	10
N° de organismos por concentración	30 individuos.
Aireación de la solución de prueba	No fue requerida la aireación (excepto si la concentración baja 6 mg/L de oxígeno).
Tipo de envase	Plástico
Volumen de solución	10 ml
Régimen de alimentación	No se requiere alimentación
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Tipo de Bioensayo	Agudo
Duración del bioensayo	48 horas
Control positivo	3,5 Diclorofenol según ISO 14669
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Un 90 % o más de sobrevivencia en los controles



RESULTADOS BIOENSAYOS AGUDOS EN AGUA INTERMAREAL

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad aguda con *Tisbe longicornis*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 22/05/17

Estación	Salinidad ups	pH	Oxígeno mg/L	CL ₅₀ 48h
LBA-B	29,1	8,14	>5,8	N.D.
LBA-G	30,9	8,06	>5,8	N.D.
LBA-E	31,9	8,11	>5,8	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo (3-5 Diclorofenol): CL_{50-24h}: 1,44 ppm (1,19 – 1,74). Según Norma ISO 14669

Oxígeno requerido Según Norma ISO 14669

Control Negativo: 100 % Supervivencia

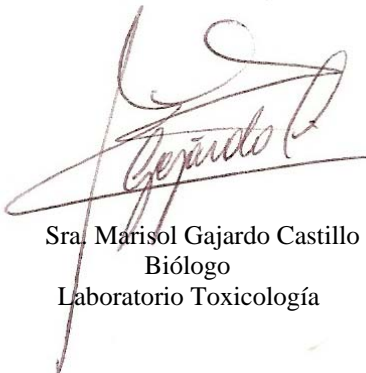


COMENTARIOS

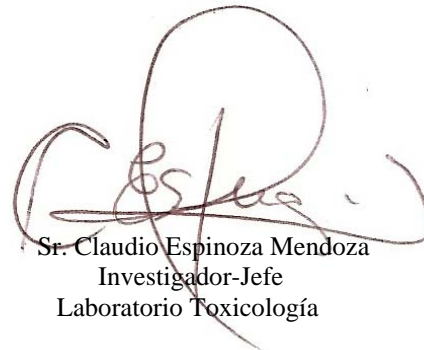
- En los ensayos realizados con *Tisbe longicornis*, para las estaciones del sector Intermareal, en la novena campaña del proyecto Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA) Mayo de 2017, no se observaron valores de CL_{50} , después de 48 horas de exposición.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F
- ISO 14669. Water quality-Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea).



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-59-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Aguda
Especie utilizada:	<i>Tisbe longicornis</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	AGUA ESTUARINA
Efecto Medido:	Mortalidad
	CL₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto agudo, mortalidad, en un 50% de la población muestreada, utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Tisbe longicornis*

Variable	Especificaciones
Temperatura	13° C \pm 1° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	16/8 (luz/oscuridad)
Edad de los organismos	adultos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	10
N° de organismos por concentración	30 individuos.
Aireación de la solución de prueba	No fue requerida la aireación (excepto si la concentración baja 6 mg/L de oxígeno).
Tipo de envase	Plástico
Volumen de solución	10 ml
Régimen de alimentación	No se requiere alimentación
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Tipo de Bioensayo	Agudo
Duración del bioensayo	48 horas
Control positivo	3,5 Diclorofenol según ISO 14669
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Un 90 % o más de sobrevivencia en los controles



RESULTADOS BIOENSAYOS CON AGUA ESTUARINA

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad aguda con *Tisbe longicornis*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 22/05/17

Estación	Salinidad ups	pH	Oxígeno mg/L	CL ₅₀ 48h
LBA-17	11,0*	7,53	>5,8	N.D.
LBA-18	3,7*	7,82	>5,8	N.D.

*Salinidad Corregida

N.D.: No Detectado

Control Positivo (3-5 Diclorofenol): CL_{50-24h}: 1,44 ppm (1,19 – 1,74). Según Norma ISO 14669

Oxígeno requerido Según Norma ISO 14669

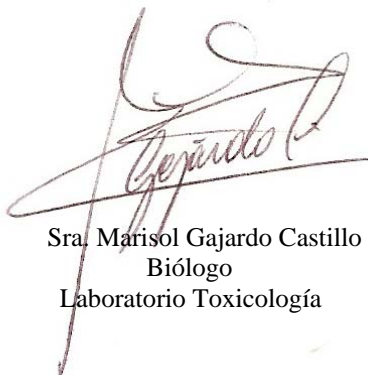
Control Negativo: 100 % Supervivencia

COMENTARIOS

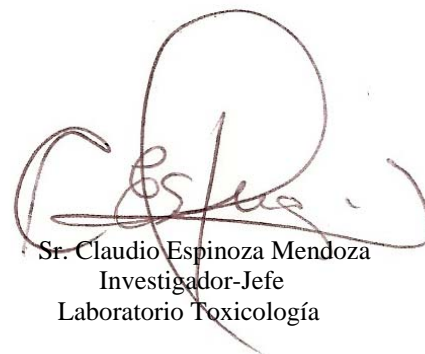
- En los ensayos realizados con *Tisbe longicornis*, para las estaciones del sector Estuario, durante la novena campaña del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA) Mayo de 2017, no se observaron valores de CL_{50} , después de 48 horas de exposición.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F
- ISO 14669. Water quality-Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea).



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-60-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Aguda
Especie utilizada:	<i>Tisbe longicornis</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	AGUA SUBMAREAL (SUPERFICIE Y FONDO)
Efecto Medido:	Mortalidad
	CL₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto agudo, mortalidad, en un 50% de la población muestreada, utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Tisbe longicornis*

Variable	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	16/8 (luz/oscuridad)
Edad de los organismos	adultos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	10
N° de organismos por concentración	30 individuos.
Aireación de la solución de prueba	No fue requerida la aireación (excepto si la concentración baja 6 mg/L de oxígeno).
Tipo de envase	Plástico
Volumen de solución	10 ml
Régimen de alimentación	No se requiere alimentación
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Tipo de Bioensayo	Agudo
Duración del bioensayo	48 horas
Control positivo	3,5 Diclorofenol según ISO 14669
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Un 90 % o más de sobrevivencia en los controles

RESULTADOS BIOENSAYOS AGUDOS EN AGUA SUBMAREAL (SUPERFICIE Y FONDO)

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
 Análisis requerido: Toxicidad aguda con *Tisbe longicornis*
 Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
 Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
 Realización Bioensayo: 22/05/17

Estación	Nivel columna de agua	Salinidad ups	pH	Oxígeno mg/L	CL _{50 48h}
LBA-1	Superficie	32,5	8,07	>5,8	N.D.
	Fondo	32,9	8,01	>5,8	N.D.
LBA-2	Superficie	32,7	7,85	>5,8	N.D.
	Fondo	33,9	8,02	>5,8	N.D.
LBA-3	Superficie	32,6	7,98	>5,8	N.D.
	Fondo	32,8	8,04	>5,8	N.D.
LBA-4	Superficie	32,2	8,17	>5,8	N.D.
	Fondo	32,8	8,08	>5,8	N.D.
LBA-5	Superficie	32,1	8,21	>5,8	N.D.
	Fondo	33,1	8,00	>5,8	N.D.
LBA-8	Superficie	32,2	8,10	>5,8	N.D.
	Fondo	33,2	7,95	>5,8	N.D.
LBA-13	Superficie	32,5	8,05	>5,8	N.D.
	Fondo	33,6	7,72	>5,8	N.D.
ZPL-1	Superficie	32,5	8,02	>5,8	N.D.
	Fondo	32,7	7,95	>5,8	N.D.

N.D: No Detectado

Control Positivo (3-5 Diclorofenol): CL_{50-24h}: 1,44 ppm (1,19 – 1,74). Según Norma ISO 14669

Oxígeno requerido Según Norma ISO 14669

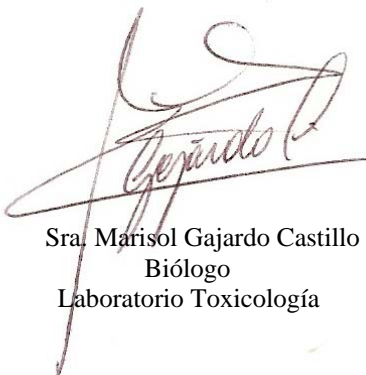
Control Negativo: 100 % Supervivencia

COMENTARIOS

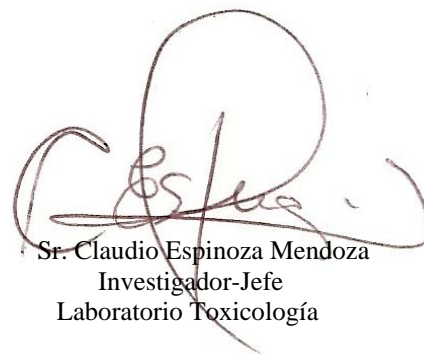
- En los ensayos realizados con *Tisbe longicornis*, para las estaciones del sector Submareal (Superficie y Fondo), durante la novena campaña del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA) Mayo 2017, no se observaron valores de CL₅₀, después de 48 horas de exposición.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F
- ISO 14669. Water quality-Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea).



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017

INFORME N°: CREA-61-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Aguda
Especie utilizada:	<i>Tisbe longicornis</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	SEDIMENTO INTERMAREAL (ELUTRIADO)
Efecto Medido:	Mortalidad
	CL₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto agudo, mortalidad, en un 50% de la población muestreada, utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Tisbe longicornis*

Variable	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	16/8 (luz/oscuridad)
Edad de los organismos	adultos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	10
N° de organismos por concentración	30 individuos.
Aireación de la solución de prueba	No fue requerida la aireación (excepto si la concentración baja 6 mg/L de oxígeno).
Tipo de envase	Plástico
Volumen de solución	10 ml
Régimen de alimentación	No se requiere alimentación
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Tipo de Bioensayo	Agudo
Duración del bioensayo	48 horas
Control positivo	3,5 Diclorofenol según ISO 14669
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Un 90 % o más de sobrevivencia en los controles



RESULTADOS BIOENSAYOS AGUDOS EN ELUTRIADO DE INTERMAREAL

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad aguda con *Tisbe longicornis*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 22/05/17

Estación	CL _{50 48h}
LBA-B	N.D.
LBA-G	N.D.
LBA-E	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo (3-5 Diclorofenol): CL_{50-24h}: 1,44 ppm (1,19 – 1,74). Según Norma ISO 14669

Control Negativo: 100 % Supervivencia

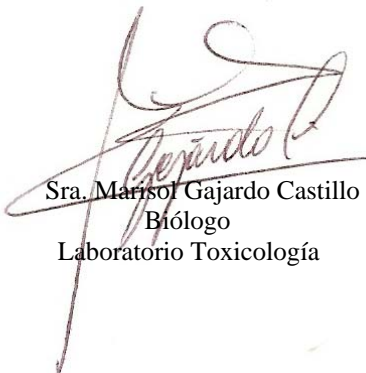


COMENTARIOS

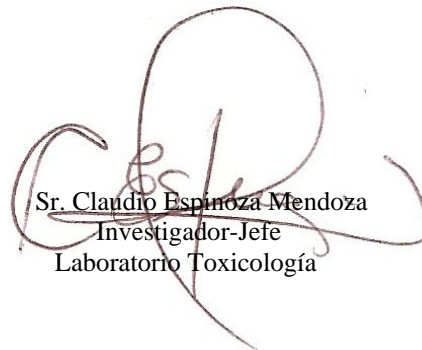
- En los ensayos realizados con *Tisbe longicornis*, para los sedimentos del sector Intermareal, en la novena campaña del proyecto Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA) Mayo de 2017, no se observaron valores de CL_{50} , después de 48 horas de exposición, con 100% de sobrevivencia de los organismos expuestos.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F
- ISO 14669. Water quality-Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea).



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017

INFORME N°: CREA-62-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Aguda
Especie utilizada:	<i>Tisbe longicornis</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	SEDIMENTO SUBMAREAL (ELUTRIADO)
Efecto Medido:	Mortalidad
	CL₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto agudo, mortalidad, en un 50% de la población muestreada, utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Tisbe longicornis*

Variable	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	16/8 (luz/oscuridad)
Edad de los organismos	adultos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	10
N° de organismos por concentración	30 individuos.
Aireación de la solución de prueba	No fue requerida la aireación (excepto si la concentración baja 6 mg/L de oxígeno).
Tipo de envase	Vidrio
Volumen de solución	10 ml
Régimen de alimentación	No se requiere alimentación
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Tipo de Bioensayo	Agudo
Duración del bioensayo	48 horas
Control positivo	3,5 Diclorofenol según ISO 14669
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Un 90 % o más de sobrevivencia en los controles

RESULTADOS BIOENSAYOS AGUDOS SEDIMENTO DE SUBMAREAL

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
 Análisis requerido: Toxicidad aguda con *Tisbe longicornis*
 Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
 Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
 Realización Bioensayo: 22/05/17

Estación	CL _{50 48h}
LBA-1	N.D.
LBA-2	N.D.
LBA-3	N.D.
LBA-4	N.D.
LBA-5	N.D.
LBA-8	N.D.
LBA-13	N.D.
ZPL-1	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo (3-5 Diclorofenol): CL_{50-24h}: 1,44 ppm (1,19 – 1,74). Según Norma ISO 14669

Control Negativo: 100 % Supervivencia

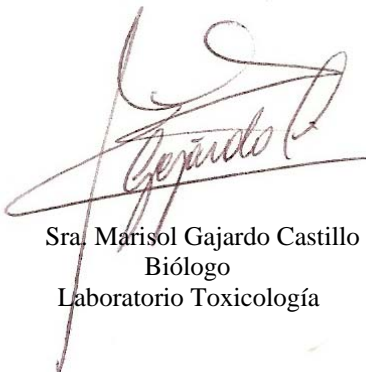


COMENTARIOS

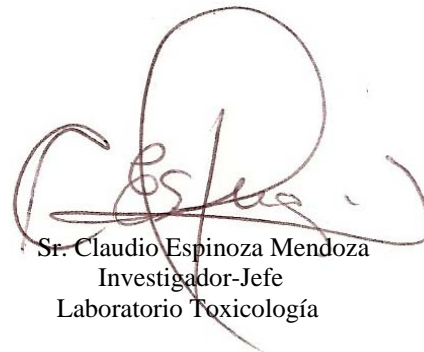
- En los ensayos realizados con *Tisbe longicornis*, para los sedimentos de las estaciones del sector Submareal, durante la novena campaña del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA) Mayo de 2017, no se observaron valores de CL₅₀, después de 48 horas de exposición.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F
- ISO 14669. Water quality-Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea).



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-63-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Aguda
Especie utilizada:	<i>Tisbe longicornis</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	SEDIMENTO ESTUARINO (ELUTRIADO)
Efecto Medido:	Mortalidad
	CL₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto agudo, mortalidad, en un 50% de la población muestreada, utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Tisbe longicornis*

Variable	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	16/8 (luz/oscuridad)
Edad de los organismos	adultos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	10
N° de organismos por concentración	30 individuos.
Aireación de la solución de prueba	No fue requerida la aireación (excepto si la concentración baja 6 mg/L de oxígeno).
Tipo de envase	Vidrio
Volumen de solución	10 ml
Régimen de alimentación	No se requiere alimentación
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Tipo de Bioensayo	Agudo
Duración del bioensayo	48 horas
Control positivo	3,5 Diclorofenol según ISO 14669
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Un 90 % o más de sobrevivencia en los controles



RESULTADOS BIOENSAYOS CON AGUA ESTUARINA

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad aguda con *Tisbe longicornis*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 22/05/17

Estación	CL ₅₀ 48h
LBA-17	N.D.
LBA-18	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo (3-5 Diclorofenol): CL_{50-24h}: 1,44 ppm (1,19 – 1,74). Según Norma ISO 14669

Control Negativo: 100 % Supervivencia

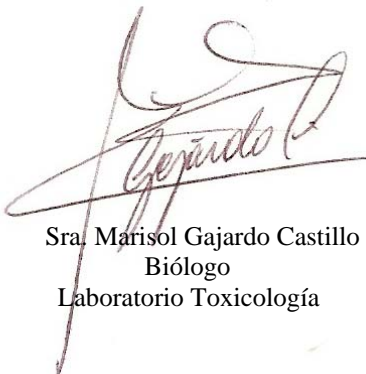


COMENTARIOS

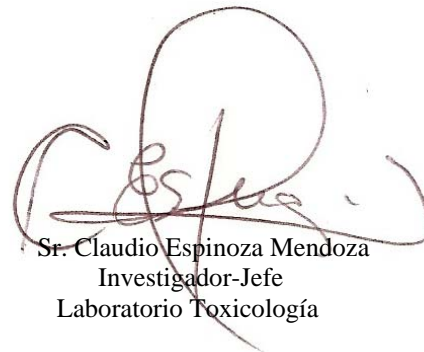
- Los ensayos realizados con *Tisbe longicornis*, con los sedimentos del sector Estuario, durante la novena campaña del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA) Mayo de 2017, no evidenciaron valores de CL_{50} , después de 48 horas de exposición.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F
- ISO 14669. Water quality-Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea).



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-64-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Isochrysis galbana</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	AGUA INTERMAREAL
Efecto Medido:	Tasa de crecimiento CE₅₀: Concentración o dilución que provoca la inhibición del crecimiento poblacional muestreada en un 50%. Los efectos cuantificados para este parámetro son subletales y se encuentran principalmente en la tasa de crecimiento.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo crónico con *Isochrysis galbana*

Variable	Especificaciones
Temperatura	24° C ± 2° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	24 horas día
Edad de cultivo	Cuatro a siete días
N° de réplicas	3 réplicas
N° organismos por réplica	10 mil cel/ml app
N° organismos por dilución	30 mil cel/ml app
Densidad celular inicial	10 mil células/ml
Velocidad de agitación	Manual, discontinua
Agua de dilución	Agua Control negativo
Tipo de envase	Vidrio
Factor de dilución	0,5
Duración del bioensayo	96 horas
Recambio de agua	No
Control positivo	Dicromato e Potasio
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Tasa de crecimiento del Control entre 0,39 y 1,04



RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS EN AGUA INTERMAREAL

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad Crónica con *Isochrysis galbana*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 12/06/17

Estación	Salinidad ups	pH	CE ₅₀ 96h
LBA-B	29,1	8,14	N.D.
LBA-G	30,9	8,06	N.D.
LBA-E	31,9	8,11	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE_{50-96h}: 6,34 (5,78 – 6,90) ppm de K₂CR₂O₇

Control Negativo: 1,38 ± 0,1 Tasa de crecimiento

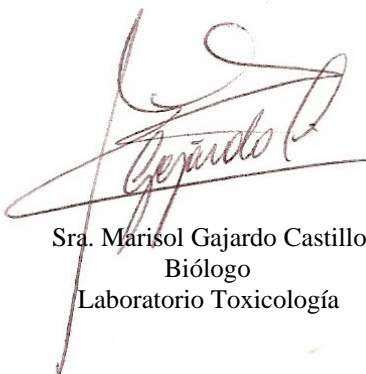


COMENTARIOS

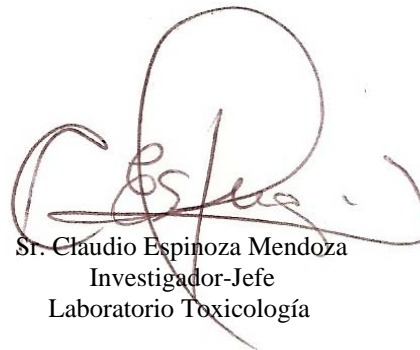
- Los ensayos crónicos realizados, para la novena campaña de Mayo de 2017, en el proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA), del sector intermareal, no evidenciaron efectos subletales sobre la tasa de crecimiento celular de la microalga *Isochrysis galbana*.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-65-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Isochrysis galbana</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	AGUA ESTUARIO
Efecto Medido:	Tasa de crecimiento CE₅₀: Concentración o dilución que provoca la inhibición del crecimiento poblacional muestreada en un 50%. Los efectos cuantificados para este parámetro son subletales y se encuentran principalmente en la tasa de crecimiento.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo crónico con *Isochrysis galbana*

Variable	Especificaciones
Temperatura	24° C ± 2° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	24 horas día
Edad de cultivo	Cuatro a siete días
N° de réplicas	3 réplicas
N° organismos por réplica	10 mil cel/ml app
N° organismos por dilución	30 mil cel/ml app
Densidad celular inicial	10 mil células/ml
Velocidad de agitación	Manual, discontinua
Agua de dilución	Agua Control negativo
Tipo de envase	Vidrio
Factor de dilución	0,5
Duración del bioensayo	96 horas
Recambio de agua	No
Control positivo	Dicromato e Potasio
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Tasa de crecimiento del Control entre 0,39 y 1,04

RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS EN AGUA DE ESTUARIO

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad Crónica con *Isochrysis galbana*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 12/06/17

Estación	Salinidad ups	pH	CE _{50 96h}
LBA-17	11,0*	7,53	N.D.
LBA-18	3,7*	7,82	N.D.

*= salinidad corregida

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE_{50-96h}: 6,34 (5,78 – 6,90) ppm de K₂CR₂O₇

Control Negativo: 1,38 ± 0,1 Tasa de crecimiento

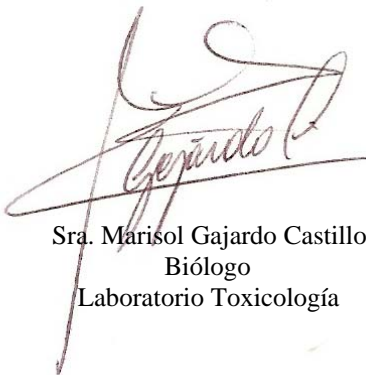


COMENTARIOS

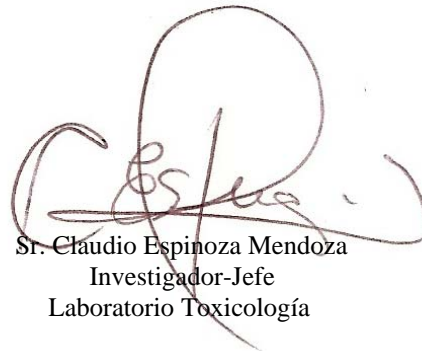
- Los ensayos crónicos realizados con microalga, durante la novena campaña de Mayo de 2017, del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA), del sector estuario, no evidenciaron efectos subletales sobre la tasa de crecimiento celular de la microalga *Isochrysis galbana*.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017

INFORME N°: CREA-66-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Isochrysis galbana</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	AGUA SUBMAREAL (SUPERFICIE Y FONDO)
Efecto Medido:	Tasa de crecimiento CE₅₀: Concentración o dilución que provoca la inhibición del crecimiento poblacional muestreada en un 50%. Los efectos cuantificados para este parámetro son subletales y se encuentran principalmente en la tasa de crecimiento.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo crónico con *Isochrysis galbana*

Variable	Especificaciones
Temperatura	24° C ± 2° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	24 horas día
Edad de cultivo	Cuatro a siete días
N° de réplicas	3 réplicas
N° organismos por réplica	10 mil cel/ml app
N° organismos por dilución	30 mil cel/ml app
Densidad celular inicial	10 mil células/ml
Velocidad de agitación	Manual, discontinua
Agua de dilución	Agua Control negativo
Tipo de envase	Vidrio
Factor de dilución	0,5
Duración del bioensayo	96 horas
Recambio de agua	No
Control positivo	Dicromato de Potasio
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Tasa de crecimiento del Control entre 0,39 y 1,04

RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS EN AGUA SUBMAREAL (SUPERFICIE Y FONDO)

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
 Análisis requerido: Toxicidad Crónica con *Isochrysis galbana*
 Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
 Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
 Realización Bioensayo: 12/06/17

Estación	Nivel columna de agua	Salinidad ups	pH	CE _{50 96h}
LBA-1	Superficie	32,5	8,07	N.D.
	Fondo	32,9	8,01	N.D.
LBA-2	Superficie	32,7	7,85	N.D.
	Fondo	33,9	8,02	N.D.
LBA-3	Superficie	32,6	7,98	N.D.
	Fondo	32,8	8,04	N.D.
LBA-4	Superficie	32,2	8,17	N.D.
	Fondo	32,8	8,08	N.D.
LBA-5	Superficie	32,1	8,21	N.D.
	Fondo	33,1	8,00	N.D.
LBA-8	Superficie	32,2	8,10	N.D.
	Fondo	33,2	7,95	N.D.
LBA-13	Superficie	32,5	8,05	N.D.
	Fondo	33,6	7,72	N.D.
ZPL-1	Superficie	32,5	8,02	N.D.
	Fondo	32,7	7,95	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE_{50-96h}: 6,34 (5,78 – 6,90) ppm de K₂CR₂O₇

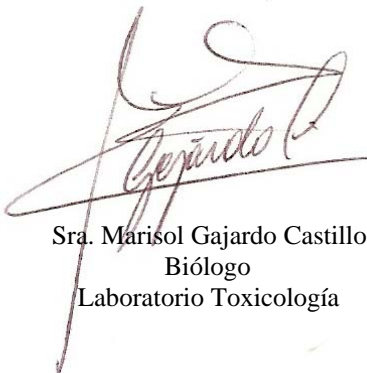
Control Negativo Superficie y Fondo: 1,38 ± 0,1 Tasa de crecimiento

COMENTARIOS

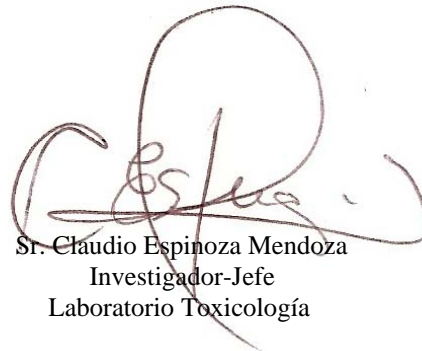
- Los ensayos crónicos realizados, para la novena campaña del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA) Mayo 2017, del sector submareal (superficie y fondo), no evidenciaron efectos subletales sobre la tasa de crecimiento celular de la microalga *Isochrysis galbana*.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F



Sra. Marişol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017

INFORME N°: CREA-67-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Isochrysis galbana</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	SEDIMENTO INTERMAREAL (ELUTRIADO)
Efecto Medido:	Tasa de crecimiento CE₅₀: Concentración o dilución que provoca la inhibición del crecimiento poblacional muestreada en un 50%. Los efectos cuantificados para este parámetro son subletales y se encuentran principalmente en la tasa de crecimiento.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo crónico con *Isochrysis galbana*

Variable	Especificaciones
Temperatura	24° C ± 2° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	24 horas día
Edad de cultivo	Cuatro a siete días
N° de réplicas	3 réplicas
N° organismos por réplica	10 mil cel/ml app
N° organismos por dilución	30 mil cel/ml app
Densidad celular inicial	10 mil células/ml
Velocidad de agitación	Manual, discontinua
Agua de dilución	Agua Control negativo
Tipo de envase	Vidrio
Factor de dilución	0,5
Duración del bioensayo	96 horas
Recambio de agua	No
Control positivo	Dicromato e Potasio
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Tasa de crecimiento del Control entre 0,39 y 1,04

RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS EN SEDIMENTO INTERMAREAL

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad Crónica con *Isochrysis galbana*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 22/06/17

Estación	CE _{50 96h}
LBA-B	N.D.
LBA-G	N.D.
LBA-E	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE_{50-96h}: 6,34 (5,78 – 6,90) ppm de K₂CR₂O₇

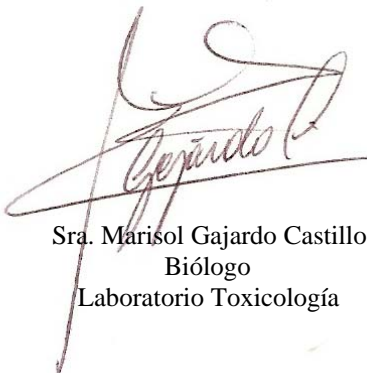
Control Negativo: 1,38 ± 0,1 Tasa de crecimiento

COMENTARIOS

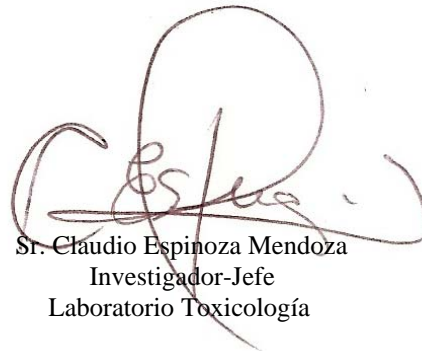
- Los ensayos crónicos realizados, durante la novena campaña de Mayo 2017, del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA), en los sedimentos del sector intermareal, no evidenciaron efectos subletales sobre la tasa de crecimiento celular de la microalga *Isochrysis galbana*.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F



Sra. Marişol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-68-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Isochrysis galbana</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	SEDIAMENTO SUBMAREAL (ELUTRIADO)
Efecto Medido:	Tasa de crecimiento CE₅₀: Concentración o dilución que provoca la inhibición del crecimiento poblacional muestreada en un 50%. Los efectos cuantificados para este parámetro son subletales y se encuentran principalmente en la tasa de crecimiento.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo crónico con *Isochrysis galbana*

Variable	Especificaciones
Temperatura	24° C ± 2° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	24 horas día
Edad de cultivo	Cuatro a siete días
N° de réplicas	3 réplicas
N° organismos por réplica	10 mil cel/ml app
N° organismos por dilución	30 mil cel/ml app
Densidad celular inicial	10 mil células/ml
Velocidad de agitación	Manual, discontinua
Agua de dilución	Agua Control negativo
Tipo de envase	Vidrio
Factor de dilución	0,5
Duración del bioensayo	96 horas
Recambio de agua	No
Control positivo	Dicromato de Potasio
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Tasa de crecimiento del Control entre 0,39 y 1,04

RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS EN SEDIMENTO DE SUBMAREAL

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
 Análisis requerido: Toxicidad Crónica con *Isochrysis galbana*
 Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
 Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
 Realización Bioensayo: 12/05/17

Estación	CE _{50 96h}
LBA-1	N.D.
LBA-2	N.D.
LBA-3	N.D.
LBA-4	N.D.
LBA-5	N.D.
LBA-8	N.D.
LBA-13	N.D.
ZPL-1	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE_{50-96h}: 6,34 (5,78 – 6,90) ppm de K₂CR₂O₇

Control Negativo: 1,38 ± 0,1 Tasa de crecimiento

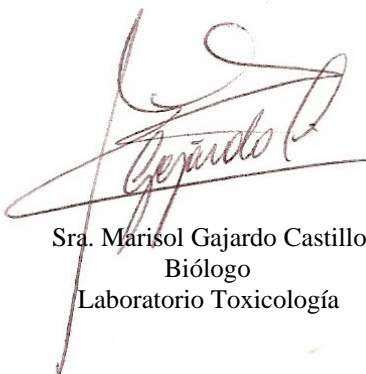


COMENTARIOS

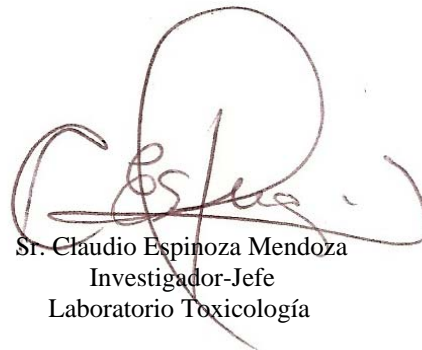
- Los ensayos crónicos realizados, durante la novena campaña del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA) Mayo 2017, con sedimento del sector submareal, no evidenciaron efectos subletales sobre la tasa de crecimiento celular de la microalga *Isochrysis galbana*.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-69-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Isochrysis galbana</i>
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F y US EPA (1995).
Muestra Control:	SEDIMENTOS ESTUARINOS
Efecto Medido:	Tasa de crecimiento CE₅₀: Concentración o dilución que provoca la inhibición del crecimiento poblacional muestreada en un 50%. Los efectos cuantificados para este parámetro son subletales y se encuentran principalmente en la tasa de crecimiento.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo crónico con *Isochrysis galbana*

Variable	Especificaciones
Temperatura	24° C ± 2° C
Iluminación	Iluminación ambiental del laboratorio
Fotoperíodo	24 horas día
Edad de cultivo	Cuatro a siete días
N° de réplicas	3 réplicas
N° organismos por réplica	10 mil cel/ml app
N° organismos por dilución	30 mil cel/ml app
Densidad celular inicial	10 mil células/ml
Velocidad de agitación	Manual, discontinua
Agua de dilución	Agua Control negativo
Tipo de envase	Vidrio
Factor de dilución	0,5
Duración del bioensayo	96 horas
Recambio de agua	No
Control positivo	Dicromato e Potasio
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	Tasa de crecimiento del Control entre 0,39 y 1,04

RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS EN SEDIMENTO DE ESTUARIO

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad Crónica con *Isochrysis galbana*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 12/06/17

Estación	CE _{50 96h}
LBA-17	N.D.
LBA-18	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE_{50-96h}: 6,34 (5,78 – 6,90) ppm de K₂CR₂O₇

Control Negativo: 1,38 ± 0,1 Tasa de crecimiento

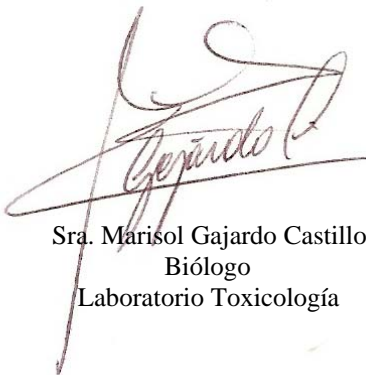


COMENTARIOS

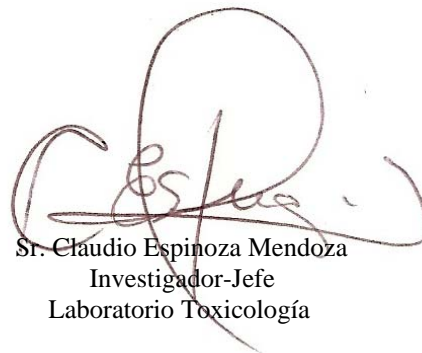
- Los ensayos crónicos realizados, durante la novena campaña de Mayo de 2017 del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco (MAPA), con sedimentos del sector estuarino, no evidenciaron efectos subletales sobre la tasa de crecimiento celular de la microalga *Isochrysis galbana*.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (1991) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms EPA- 600/4-90-027F



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 10 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-70-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de Gametos)
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-014.
Muestra:	AGUA INTERMAREAL
Efecto Medido:	Porcentaje de Fecundación CE₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto crónico, cuantificado como porcentaje de fecundación, en un 50% de la población muestreada utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Arbacia spatuligera*

Variables	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	No requiere
Fotoperíodo	No requiere
Edad de los organismos	gametos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	2000 óvulos
N° de organismos por dilución	6000 óvulos
Aireación de la solución de prueba	El agua de dilución fue aireada antes del bioensayo, durante el experimento no fue necesario (oxígeno > 6 mg/L)
Duración del bioensayo	1 hora
Tipo de envase	Tubos de ensayo de borosilicato desechables (10 ml de capacidad)
Volumen de solución	5 ml
Régimen de alimentación	No requiere
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Control positivo	Fenol
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	70% de fecundación en control

RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS CON AGUA INTERMAREAL

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
 Análisis requerido: Toxicidad crónica con *Arbacia spatuligera*
 Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
 Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
 Realización Bioensayo: 24/53/17

Estación	Salinidad ups	pH	Oxígeno mg/L	(%) Fecundación	CE ₅₀ 1h
LBA-B	29,1	8,14	>5,8	81,6	N.D.
LBA-G	30,9	8,06	>5,8	81,0	N.D.
LBA-E	31,9	8,11	>5,8	81,3	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE₅₀: 5,4 (4,8 – 6,2) ppb Cobre

Control Negativo (Agua de mar): 95,3 ± 1,53 % de fecundación de gametos.

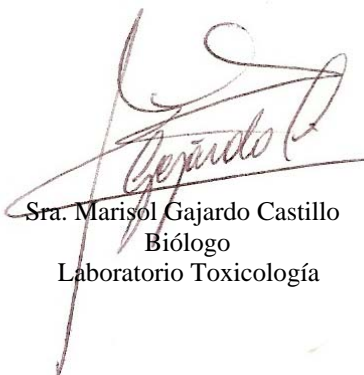


COMENTARIOS

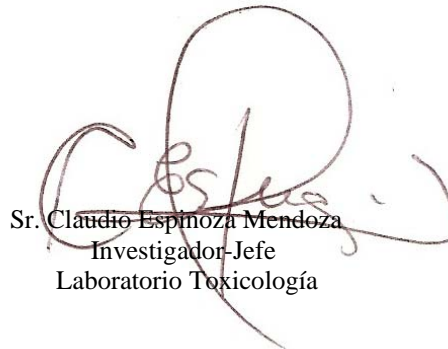
- En los ensayos realizados con los gametos de *Arbacia spatuligera*, en las muestras del sector intermareal, obtenidas en la novena campaña de Mayo de 2017, del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco, no se observó efecto sobre la fecundación de los organismos. No detectándose valor de CE_{50-1h} .

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-013.



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 11 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-71-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de Gametos)
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-014.
Muestra:	AGUA SUBMAREAL (SUPERFICIE Y FONDO)
Efecto Medido:	Porcentaje de Fecundación CE₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto crónico, cuantificado como porcentaje de fecundación, en un 50% de la población muestreada utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Arbacia spatuligera*

Variables	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	No requiere
Fotoperíodo	No requiere
Edad de los organismos	gametos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	2000 óvulos
N° de organismos por dilución	6000 óvulos
Aireación de la solución de prueba	El agua de dilución fue aireada antes del bioensayo, durante el experimento no fue necesario (oxígeno > 6 mg/L)
Duración del bioensayo	1 hora
Tipo de envase	Tubos de ensayo de borosilicato desechables (10 ml de capacidad)
Volumen de solución	5 ml
Régimen de alimentación	No requiere
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Control positivo	Fenol
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	70% de fecundación en control

RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS CON AGUA SUBMAREAL (SUPERFICIE Y FONDO)

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
 Análisis requerido: Toxicidad crónica con *Arbacia spatuligera*
 Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
 Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
 Realización Bioensayo: 24/05/17

Estación	Nivel columna de agua	Salinidad ups	pH	Oxígeno mg/L	(%) Fecundación	CE ₅₀ 1h
LBA-1	Superficie	32,5	8,07	>5,8	84,6	N.D.
	Fondo	32,9	8,01	>5,8	84,0	N.D.
LBA-2	Superficie	32,7	7,85	>5,8	82,3	N.D.
	Fondo	33,9	8,02	>5,8	86,3	N.D.
LBA-3	Superficie	32,6	7,98	>5,8	80,0	N.D.
	Fondo	32,8	8,04	>5,8	88,6	N.D.
LBA-4	Superficie	32,2	8,17	>5,8	84,0	N.D.
	Fondo	32,8	8,08	>5,8	87,0	N.D.
LBA-5	Superficie	32,1	8,21	>5,8	84,6	N.D.
	Fondo	33,1	8,00	>5,8	83,6	N.D.
LBA-8	Superficie	32,2	8,10	>5,8	89,0	N.D.
	Fondo	33,2	7,95	>5,8	83,6	N.D.
LBA-13	Superficie	32,5	8,05	>5,8	79,6	N.D.
	Fondo	33,6	7,72	>5,8	87,0	N.D.
ZPL-1	Superficie	32,5	8,02	>5,8	81,6	N.D.
	Fondo	32,7	7,95	>5,8	90,0	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE₅₀: 5,4 (4,8 – 6,2) ppb de Cobre.

Control Negativo (Agua de mar): 95,3 ± 1,53 % de fecundación de gametos.

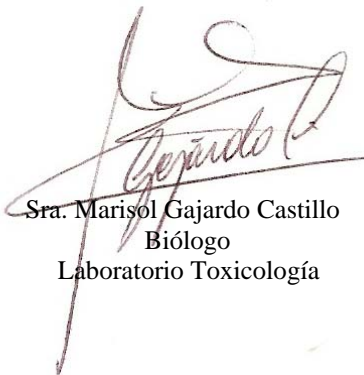


COMENTARIOS

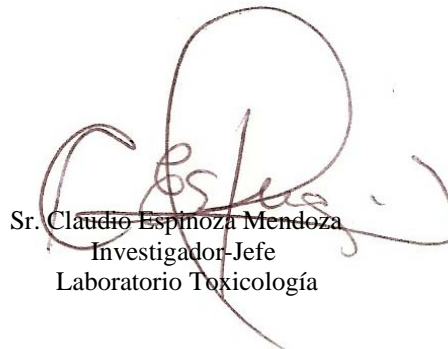
- En los ensayos realizados con los gametos de *Arbacia spatuligera*, en las muestras del sector submareal (superficie y fondo), obtenidas en la novena campaña Mayo de 2017, del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco, no se observó efecto sobre la fecundación de los organismos. No detectándose valor de CE_{50-1h} .

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-013.



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 11 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-72-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de Gametos)
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-014.
Muestra:	AGUA ESTUARINA
Efecto Medido:	Porcentaje de Fecundación CE₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto crónico, cuantificado como porcentaje de fecundación, en un 50% de la población muestreada utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Arbacia spatuligera*

Variables	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	No requiere
Fotoperíodo	No requiere
Edad de los organismos	gametos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	2000 óvulos
N° de organismos por dilución	6000 óvulos
Aireación de la solución de prueba	El agua de dilución fue aireada antes del bioensayo, durante el experimento no fue necesario (oxígeno > 6 mg/L)
Duración del bioensayo	1 hora
Tipo de envase	Tubos de ensayo de borosilicato desechables (10 ml de capacidad)
Volumen de solución	5 ml
Régimen de alimentación	No requiere
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Control positivo	Fenol
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	70% de fecundación en control

RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS CON AGUA DE ESTUARIO

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
 Análisis requerido: Toxicidad crónica con *Arbacia spatuligera*
 Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
 Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
 Realización Bioensayo: 24/05/17

Estación	Salinidad ups	pH	Oxígeno mg/L	(%) Fecundación	CL ₅₀ 1h
LBA-17	11,0*	7,53	>5,8	87,7	N.D.
LBA-18	3,7*	7,82	>5,8	89,0	N.D.

* Salinidad corregida

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE₅₀: 5,4 (4,8 – 6,2) ppb de Cobre

Control Negativo (Agua de mar): 95,3 ± 1,53 % de fecundación de gametos.

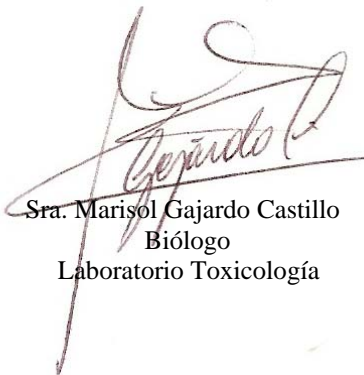


COMENTARIOS

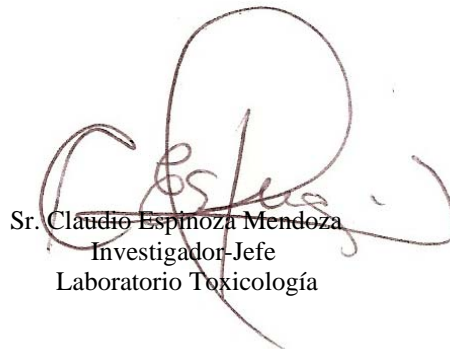
- Los ensayos realizados con los gametos de *Arbacia spatuligera*, con muestras del sector estuarino, obtenidas en la novena campaña de Mayo de 2017, del proyecto de Modernización y Ampliación Plata Arauco, no evidenciaron efecto sobre la fecundación de los organismos. No detectándose valor de CE_{50-1h} .

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-013.



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 11 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-73-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de Gametos)
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-014.
Muestra:	SEDIMENTO INTERMAREAL
Efecto Medido:	Porcentaje de Fecundación CE₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto crónico, cuantificado como porcentaje de fecundación, en un 50% de la población muestreada utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Arbacia spatuligera*

Variables	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	No requiere
Fotoperíodo	No requiere
Edad de los organismos	gametos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	2000 óvulos
N° de organismos por dilución	6000 óvulos
Aireación de la solución de prueba	El agua de dilución fue aireada antes del bioensayo, durante el experimento no fue necesario (oxígeno > 6 mg/L)
Duración del bioensayo	1 hora
Tipo de envase	Tubos de ensayo de borosilicato desechables (10 ml de capacidad)
Volumen de solución	5 ml
Régimen de alimentación	No requiere
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Control positivo	Fenol
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	70% de fecundación en control



RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS CON SEDIMENTO INTERMAREAL

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad crónica con *Arbacia spatuligera*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 24/05/17

Estación	(%) Fecundación	CE _{50 1h}
LBA-B	78,3	N.D.
LBA-G	96,3	N.D.
LBA-E	95,3	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE₅₀: 5,4 (4,8 – 6,2) ppb de Cobre.

Control Negativo (Agua de mar): 95,3 ± 1,53 % de fecundación de gametos.

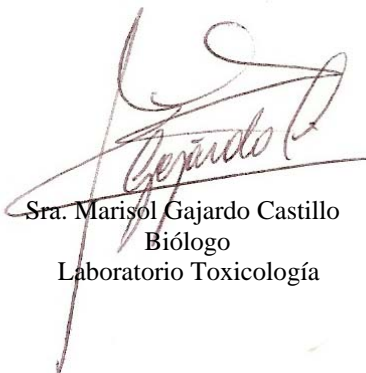


COMENTARIOS


- Los ensayos realizados con los gametos de *Arbacia spatuligera* con muestras de sedimento del sector intermareal, obtenidas en la novena campaña de Mayo de 2017, dentro del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco, no se observó efecto sobre la fecundación de los organismos. No detectándose valor de CE_{50-1h} .

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-013.



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 11 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-74-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de Gametos)
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-014.
Muestra:	SEDIMENTO SUBMAREAL (ELUTRIADO)
Efecto Medido:	Porcentaje de Fecundación
	CE₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto crónico, cuantificado como porcentaje de fecundación, en un 50% de la población muestreada utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Arbacia spatuligera*

Variables	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	No requiere
Fotoperíodo	No requiere
Edad de los organismos	gametos
N° de réplicas	3 réplicas
N° de organismos por réplica	2000 óvulos
N° de organismos por dilución	6000 óvulos
Aireación de la solución de prueba	El agua de dilución fue aireada antes del bioensayo, durante el experimento no fue necesario (oxígeno > 6 mg/L)
Duración del bioensayo	1 hora
Tipo de envase	Tubos de ensayo de borosilicato desechables (10 ml de capacidad)
Volumen de solución	5 ml
Régimen de alimentación	No requiere
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Control positivo	Fenol
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	70% de fecundación en control



RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS CON SEDIMENTO SUBMAREAL

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad crónica con *Arbacia spatuligera*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 24/05/17

Estación	(%) Fecundación	CE ₅₀ 1h
LBA-1	65,3	N.D.
LBA-2	39,0	84,41%
LBA-3	59,3	N.D.
LBA-4	81,3	N.D.
LBA-5	50,5	N.D.
LBA-8	52,6	N.D.
LBA-13	84,0	N.D.
LBA-ZPL	69,3	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE₅₀: 5,4 (4,8 – 6,2) ppb de Cobre.

Control Negativo (Agua de mar): 95,3 ± 1,53 % de fecundación de gametos.

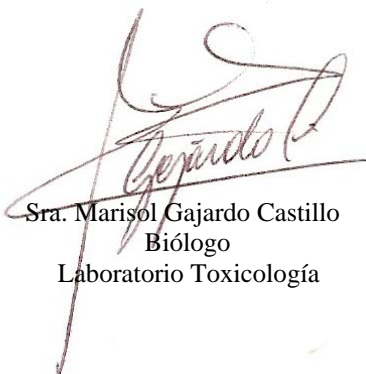


COMENTARIOS

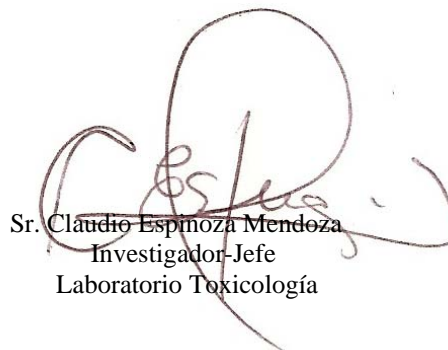
- Los ensayos realizados con los gametos de *Arbacia spatuligera*, con sedimentos del sector submareal, obtenidos en la novena campaña de Mayo de 2017, del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco, no evidenciaron efecto sobre la fecundación de los organismos, en la mayoría de las estaciones evaluadas, a excepción de la estación LBA-2, donde se obtuvo un valor de CI_{50} de 84,41%.

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-013.



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 11 de agosto de 2017



INFORME N°: CREA-75-17

Tipo de Bioensayo:	Toxicidad Crónica
Especie utilizada:	<i>Arbacia spatuligera</i> (Fecundación de Gametos)
Metodología utilizada:	Los bioensayos fueron realizados en base a normas estandarizadas por US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-014.
Muestra:	SEDIMENTO ESTUARINO
Efecto Medido:	Porcentaje de Fecundación CE₅₀: Concentración o dilución que provoca un efecto crónico, cuantificado como porcentaje de fecundación, en un 50% de la población muestreada utilizada en el bioensayo.

CONDICIONES DEL BIOENSAYO

Tabla 1. Condiciones de prueba para la realización del ensayo agudo con *Arbacia spatuligera*

Variables	Especificaciones
Temperatura	13° C ±1° C
Iluminación	No requiere
Fotoperíodo	No requiere
Edad de los organismos	gametos
Nº de réplicas	3 réplicas
Nº de organismos por réplica	2000 óvulos
Nº de organismos por dilución	6000 óvulos
Aireación de la solución de prueba	El agua de dilución fue aireada antes del bioensayo, durante el experimento no fue necesario (oxígeno > 6 mg/L)
Duración del bioensayo	1 hora
Tipo de envase	Tubos de ensayo de borosilicato desechables (10 ml de capacidad)
Volumen de solución	5 ml
Régimen de alimentación	No requiere
Agua de dilución	La caracterizada como tal
Control positivo	Fenol
Criterio de aceptabilidad del bioensayo	70% de fecundación en control

RESULTADOS BIOENSAYOS CRÓNICOS CON SEDIMENTO DE ESTUARIO

Empresa solicitante: Celulosa Arauco y Constitución S.A., Planta Arauco
Análisis requerido: Toxicidad crónica con *Arbacia spatuligera*
Fecha de Muestreo: 02/05/17 a 05/02/2017
Recepción de la Muestra: 02/05/17 a 05/02/2017
Realización Bioensayo: 24/05/17

Estación	(%) Fecundación	CE ₅₀ 1h
LBA-17	52,3	N.D.
LBA-18	50,3	N.D.

N.D.: No Detectado

Control Positivo CE₅₀: 5,4 (4,8 – 6,2) ppb de Cobre.

Control Negativo (Agua de mar): 95,3 ± 1,53 % de fecundación de gametos.

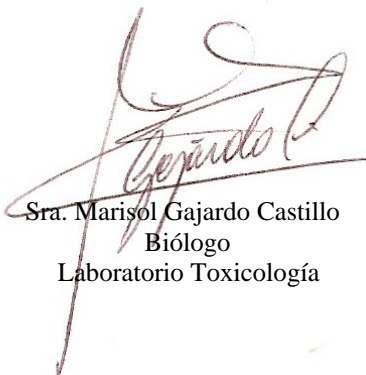


COMENTARIOS

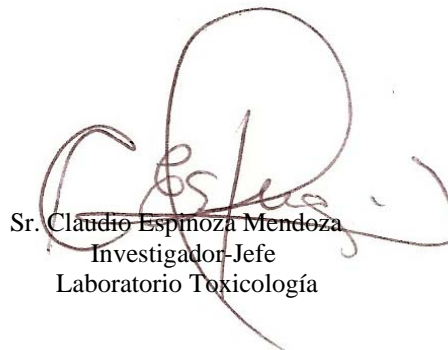
- Los ensayos realizados con gametos de *Arbacia spatuligera*, en sedimentos del sector estuarino, obtenidos en la novena campaña de Mayo de 2017, dentro del proyecto de Modernización y Ampliación Planta Arauco, no evidenciaron efecto sobre la fecundación de los organismos. No detectándose valor de CE_{50-1h} .

BIBLIOGRAFÍA

- US-EPA (2002) Methods for Measuring the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and estuarine organisms EPA- 821-R-02-013.



Sra. Marisol Gajardo Castillo
Biólogo
Laboratorio Toxicología



Sr. Claudio Espinoza Mendoza
Investigador-Jefe
Laboratorio Toxicología

Talcahuano, 11 de agosto de 2017