



UNIVERSIDAD  
CATOLICA DE  
TEMUCO

---

Laboratorios de Limnología y Recursos Hídricos  
&  
Ecotoxicología y Monitoreo ambiental  
Escuela de Ciencias Ambientales  
Facultad de Recursos Naturales

## **INFORME FINAL PROYECTO**

EVALUACIÓN DE RIESGO ECOLÓGICO CRÓNICO MEDIANTE UNA  
APROXIMACIÓN PROBABILÍSTICA EN CURSOS DE AGUA DE LA CUENCA DEL  
RÍO BIOBIO

**608897-28-LE13**

**COORDINADOR EQUIPO:**

**Dr. Francisco Encina Montoya.**

**TEMUCO Marzo 2014**

## **EQUIPO DE TRABAJO.**

**Director del Proyecto:** Dr. Francisco Encina Montoya<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>[fencina@uct.cl](mailto:fencina@uct.cl)

Laboratorio de Ecotoxicología y Monitoreo Ambiental.  
Laboratorio de Limnología y Recursos Hídricos.  
Escuela de Ciencias Ambientales, Facultad de Recursos Naturales.  
Universidad Católica de Temuco.

### **Equipo de Trabajo.**

Dr. Francisco Encina Montoya  
Laboratorio de Ecotoxicología y Monitoreo Ambiental.  
Escuela de Ciencias Ambientales.  
Facultad de Recursos Naturales.

Dr. David Figueroa Hernández  
Laboratorio de Limnología y Recursos Hídricos.  
Escuela de Ciencias Ambientales.  
Facultad de Recursos Naturales.

Dr. Carlos Esse Herrera  
Escuela de Ciencias Forestales  
Facultad de Recursos Naturales  
Universidad Católica de Temuco.

Ing. Acuicultura Carlos Aguayo Arias  
Laboratorio de Ecotoxicología y Monitoreo Ambiental.  
Laboratorio de Limnología y Recursos Hídricos.  
Escuela de Ciencias Ambientales.  
Facultad de Recursos Naturales.

Mg. © Biol. RR.NN. Marcela Guerrero Almanzar.  
Laboratorio de Ecotoxicología y Monitoreo Ambiental.  
Laboratorio de Limnología y Recursos Hídricos.  
Escuela de Ciencias Ambientales.  
Facultad de Recursos Naturales.

Biol. en RRNN Carolina Soto Vidal  
Mg. Ciencias mención Rec. Hídricos  
Laboratorio Ecotoxicología y Monitoreo Ambiental  
Escuela de Ciencias Ambientales

Facultad de Recursos Naturales

María Fernanda Aguayo Molina  
Laboratorio Ecotoxicología y Monitoreo Ambiental  
Escuela de Ciencias Ambientales  
Facultad de Recursos Naturales

## Contenido

1	RESUMEN.....	8
2	INTRODUCCIÓN.....	9
	ÁREA DE ESTUDIO.....	12
3	OBJETIVOS .....	16
	Objetivo General .....	16
	Objetivos Específico.....	16
4	METODOLOGIAS.....	17
5	RESULTADOS .....	25
	Componente 2. Caracterización teórica de la estructura comunitaria y de redes tróficas existentes en la cuenca del río Biobío. ....	32
	Componente 3. Identificación y selección de especies locales de relevancia ecológica para la realización de bioensayos de toxicidad. ....	36
	Componente 4. Considerando especies locales representativas de los diferentes niveles tróficos existentes en la cuenca del río Biobío, determinar niveles de sensibilidad crónica utilizando xenobióticos específicos. ....	39
	METODOLOGIA BIOENSAYOS CON ESPECIES NATIVAS .....	39
	BIOENSAYOS CRÓNICOS .....	42
	CARACTERIZACIÓN DEL RIESGO ECOLÓGICO.....	66
	Componente 5. Caracterizar el riesgo ecológico para las especies seleccionadas (evaluación de efectos y evaluación de exposición). ....	66
	Componente 6. Determinar, en base a la información teórica recopilada y la realización de bioensayos crónicos, el porcentaje de protección de especies que asegure la conservación de las funciones ecológicas y sostenibilidad de los ecosistemas que conforman la cuenca del río Biobío. ....	71
	Caracterización Probabilística.....	71
	Componente 7. En función de los resultados obtenidos, discutir la factibilidad y ventajas que supondría la inclusión de estudios de evaluación de riesgo ecológico en el diseño normativo y en la estimación de los beneficios de las NSCA para la protección de agua superficiales.....	75
6	CONCLUSIONES .....	81
7	BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.....	82
8	ANEXO.....	84

## Contenido de Tablas y Figuras

Tabla N° 1 Formato Base de Datos Digital Información cuenca río Biobío.....	18
Tabla N° 2 Formato Base de Datos Tablas de Información Componentes Biológico cuenca Río Biobío.....	19
Tabla N° 3 Estadística descriptiva de niveles de sensibilidad (bioensayos agudos y crónicos) para el Phylum Arthropoda, en ug/L base MMA.....	25
Tabla N° 4. Estadística descriptiva de niveles de sensibilidad (bioensayos agudos y crónicos) para Phylum Chordata ug/L base MMA. ....	26
Tabla N° 5 Estadística descriptiva de niveles de sensibilidad (bioensayos agudos y crónicos) para los reinos Plantae, Protista y el Phylum Rotifera en ug/L base MMA. ....	27
Tabla N° 6 Estadística descriptiva de niveles de sensibilidad (bioensayos agudos y crónicos) para el Phylum Mollusca, ug/L base MMA. ....	29
Tabla N° 7 Estadística descriptiva de niveles de sensibilidad (bioensayos agudos y crónicos) para determinadas taxa, ug/L base UCT.....	30
Tabla N° 8 Número de especies presas de la cuenca del Río Biobío.....	34
Tabla N° 9 Profesionales que integraron el panel de expertos.....	37
Tabla N° 10 Asistentes panel de expertos. ....	37
Tabla N° 11. Especies preseleccionadas para bioensayos. ....	38
Tabla N° 12. Número de individuos por ensayos. ....	39
Tabla N° 13 Taxas empleados en la realización de bioensayos de toxicidad.....	42
Tabla N° 14. Condiciones generales para la realización del test con microalgas.....	45
Tabla N° 15. Concentraciones ensayos microalgas expresadas en mg/l.....	45
Tabla N° 16. Condiciones generales para la realización del test con cladóceros.....	50
Tabla N° 17. Concentraciones ensayos cladóceros expresadas en mg/L.....	50
Tabla N° 18. Condiciones generales para la realización del test con macroinvertebrados bentónicos. ....	52
Tabla N° 19. Concentraciones ensayos macroinvertebrados bentónicos expresadas en mg/l.....	52
Tabla N° 20. Condiciones generales para la realización del test con peces.....	55
Tabla N° 21. Concentraciones ensayos <i>Galaxias maculatus</i> expresadas en mg/L.....	56
Tabla N° 22. Soluciones nutritivas para el cultivo de <i>Lemna valdiviana</i> según medio de Steinberg (modificado por Altenburger).....	57
Tabla N° 23. Valores de NOEC para <i>Selenastrum capricornutum</i> .....	59
Tabla N° 24. Concentraciones ensayos preliminares cloruro de sodio expresados en mg/L.....	59

Tabla N° 25. Concentraciones ensayos preliminares expuestas en cromo expresados en mg/L de metal.....	59
Tabla N° 26. Número total de mudas bioensayo expuestas a cromo (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ). .....	60
Tabla N° 27. Número total de mudas bioensayos expuestas a cloruro de sodio (NaCl).....	60
Tabla N° 28. Valores de NOEC para <i>Daphnia obtusa</i> , valores entregados en (mg/L).....	61
Tabla N° 29. Valores de NOEC para Ephemeropteros, expresados en mg/L.....	61
Tabla N° 30. Valores de NOEC para <i>T. aereolatus</i> , valores entregados en (mg/L).....	62
Tabla N° 31. Valores de NOEC <i>Galaxias maculatus</i> expresados en mg/l .....	63
Tabla N° 32. Valores de NOEC para <i>Lemna valdiviana</i> expuesto a dicromato de potasio, valores entregados en (mgCr/L). .....	64
Tabla N° 33. Valores de NOEC para <i>Lemna valdiviana</i> expuesto a sulfato de aluminio, valores entregados en (mgAl/L). .....	64
Tabla N° 34. Valores de NOEC para <i>Lemna valdiviana</i> expuesto a cloruro de sodio, valores entregados en (g Cl/L). .....	65
Tabla N° 35. Valores de NOEC para <i>Lemna valdiviana</i> expuesto a cloruro de hierro, valores entregados en (mg Fe/L). .....	65
Tabla N° 36. Valores de percentiles de los parámetros seleccionados en la cuenca Biobío en mg/l.....	67
Tabla N° 37. Numero de datos de parámetros seleccionados en la cuenca Biobío en mg/l, según bases UCT, y Bibliografía.....	70
Tabla N° 38. Valores propuestos por UCT considerando especies nativas y bajo determinado factor de seguridad. ....	75
Tabla N° 39. Nivel de complejidad (tier) de la evaluación de riesgo, objetivos, productos y factores de seguridad. ....	77
Figura 1. Distribución de las estaciones de monitoreo y red hídricas, Cuenca del Río Biobío .....	13
Figura 2. Uso de suelo y delimitación de la cuenca del Río Biobío .....	14
Figura 3. Distribución zonas de interés turístico Cuenca del Río Biobío.....	15
Figura 4. Distribución de peces nativos, Cuenca del Río Biobío .....	33
Figura 5. Distribución de <i>Aeglas sp.</i> , Cuenca del Río Biobío .....	33
Figura 6. Variación en número de presas para las especies presentes en la cuenca del Río Biobío .....	35
Figura 7. Esquema de red trófico en la cuenca del Río Biobío.....	36

Figura 8. Sistema de recolección de individuos (red surber) y Sistema de selección y transporte de individuos.....	40
Figura 9. Ensayo crónico <i>Selenastrum capricornutum</i> .....	44
Figura 10. Ensayo crónico con cladóceros.....	49
Figura 11. Ensayo crónico en Ephmeropteros .....	51
Figura 12. Ensayo crónico con <i>Galaxias maculatus</i> .....	54
Figura 13. Ejemplares de Bioensayos y toma de datos.....	62
Figura 14. Flujo metodológico caracterización de riesgo.....	66
Figura 15. Perfil de medias de Conductividad de las estaciones en la cuenca del Biobío. ...	69
Figura 16. Valores promedios, máximos y mínimos de toxicidad crónica según parámetro y bases bibliograficas. ....	71
Figura 17. Distribución de sensibilidad especies (SSD) para Aluminio.....	72
Figura 18. Distribución de sensibilidad especies (SSD) para Cloruros.....	72
Figura 19. Distribución de sensibilidad especies (SSD) para Cromo.....	73
Figura 20. Distribución de sensibilidad especies (SSD) para Hierro.....	73
Figura 21. Distribución de sensibilidad especies (SSD) para Oxígeno Disuelto .....	74

## 1 RESUMEN

El informe final busca cumplir con los objetivos planteados para este estudio, recopilar, sistematizar y ordenar la información existente respecto a la cuenca del Río Biobío, esta información permitió, a su vez, caracterizar la estructura comunitaria presente en la columna de agua y bentos del río; analizar los niveles de sensibilidad aguda (efectos letales) y crónica (efectos subletales) informados para diversos xenobióticos; identificar especies locales de relevancia ecológica, especies claves y de mayor representatividad en el sistema; evaluación de efectos y evaluación de exposición. Se entrega detalle de las metodologías afinadas para las especies seleccionadas, y por último en base a la información teórica recopilada y la realización de bioensayos crónicos, el porcentaje de protección de especies que asegure la conservación de las funciones ecológicas y sostenibilidad de los ecosistemas que conforman la cuenca del río Biobío.

## 2 INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, los esfuerzos de protección de recursos hídricos se han centrado en generar procesos de elaboración de Normas Secundarias de Calidad Ambiental para la protección de las aguas de diferentes cuencas hidrográficas a lo largo del país. Ello motivado principalmente por la preocupación que ha generado el continuo aumento de la actividad humana que produce alta presión sobre el entorno y en especial sobre los recursos hídricos, generando riesgos para la protección y conservación del medio ambiente, así como también para la preservación de los recursos naturales que se asocian a dicho territorio. De esta forma, dicha degradación en la calidad del recurso hídrico ha motivado la necesidad de generar iniciativas tendientes a proteger y conservar este recurso natural.

El Ministerio del Medio Ambiente (MMA) es el encargado de coordinar el diseño, evaluación y establecimiento de Normas de Emisión (NE) y Normas Secundarias de Calidad Ambiental (NSCA) para la protección de las aguas continentales superficiales del país (ej. NSCA: DS N°75 y 122, NE: DS N°90 y 609). De acuerdo a lo establecido en la Ley N°19.300, sobre bases generales del Medioambiente, y el Reglamento para la Dictación de Normas de Calidad Ambiental y de Emisión (DS N° 93/95), las propuestas normativas y la revisión de ellas deben someterse a un Análisis General del Impacto Económico y Social (AGIES).

En específico, los AGIES de cualquier anteproyecto de norma de calidad ambiental o de emisión tiene como objetivos evaluar los costos y beneficios para i) la población, ecosistemas o especies directamente afectadas o protegidas, ii) él o los emisores que deberán cumplir las NSCA y iii) el Estado como responsable de la fiscalización del cumplimiento de esta normativa. En este sentido, uno de los aspectos más determinantes en el desarrollo de estos AGIES es la implementación de metodologías cuantitativas que permitan el análisis de los beneficios generados por el establecimiento de estas normativas.

En cuanto a la gestión y evaluación de recursos hídricos ésta ha sido abordada en los Estados Unidos (EEUU) y en la Comunidad Europea (CE), incorporando en los programas de monitoreos además de los parámetros físico-químicos tradicionales, los criterios biológicos (bioindicadores y otros) bajo un enfoque de cuenca hidrográfica (USEPA, 1992; Directiva 60/EC, 2002). Así, la Directiva Marco del Agua (DMA) 2000/60/EC, ha introducido una nueva perspectiva en la política de aguas, incorporando la Evaluación de Riegos

Ambientales (ERA) de contaminantes industriales y de productos fitosanitarios (insecticidas, herbicidas y fungicidas) sobre sistemas ecológicos y humanos. El desarrollo de ERA se basó en los enfoques de la Evaluación de Riesgos para la Salud Humana en forma independiente en los EEUU (USEPA, 1998) y posteriormente en la CE para lo cual se realizó una revisión y unificación de la base científica, metodológica y conceptual para la Evaluación del Riesgo Ambiental (ERA) (Van Leeuwen & Hermens, 1995; USEPA 1998; European Comisión, 1996, Directive 91/414/EEC, 2002). En particular, la evaluación de efectos actuales o potenciales sobre sistemas ecológicos se denomina evaluación de riesgos ecológicos (ERE) (USEPA, 1998), proceso que consiste en la caracterización y estimación de la probabilidad de ocurrencia de efectos adversos en sistemas ecológicos, como consecuencia de la actividad antrópica como resultado de la exposición de entidades ecológicas a un determinado contaminante (USEPA 1998; Encina & Díaz, 2001).

De acuerdo a Medina & Encina (2004), el proceso de Evaluación de Riesgo Ecológico (ERE) contempla las siguientes etapas: a) Identificación del peligro: en la cual se formula el problema y se identifican las características de la sustancia y sus potenciales efectos, además se identifican los componentes de ecosistema expuesto y aquello que se debe proteger; b) Evaluación del efecto: donde se determina la concentración sin efecto ecológico (PNEC), se establece la relación entre el nivel de exposición y la naturaleza, severidad y duración de los efectos del contaminante; c) Evaluación de la exposición: etapa en la cual se mide o estima la concentración ambiental esperada (PEC). Se propone un modelo del destino del contaminante y su grado de contacto con el sistema ecológico afectado; d) Caracterización del riesgo: etapa en la cual se integran los tres pasos anteriores y se calcula el riesgo implicado. De acuerdo al nivel de información se calcula la probabilidad de que los efectos ocurran por la presencia actual o futura del contaminante.

En general las metodologías de evaluación del riesgo, para la protección de los ecosistemas acuáticos, se conceptualizan como un procedimiento de dos componentes que, por una parte, involucra la "evaluación de la exposición" de los organismos a contaminantes y, por otra, la "evaluación de los efectos" que derivan de esa exposición (Vighi 1989).

El proceso de Evaluación de Riesgo Ecológico permite desarrollar, organizar y presentar información científica para la toma de decisiones relevantes en materia ambiental. Cuando la ERE es ejecutada a nivel de cuencas hidrográficas, ésta puede ser empleada para

identificar los recursos valiosos, los recursos vulnerables, priorizar la colecta de información y establecer relaciones entre la actividad humana y los efectos potenciales (EPA 1998), permitiendo identificar los valores ambientales de interés y los riesgos más importantes y detectar la falta de información, apoyando las decisiones respecto a los enfoques de investigación que deben ser desarrollados a futuro en el área en estudio.

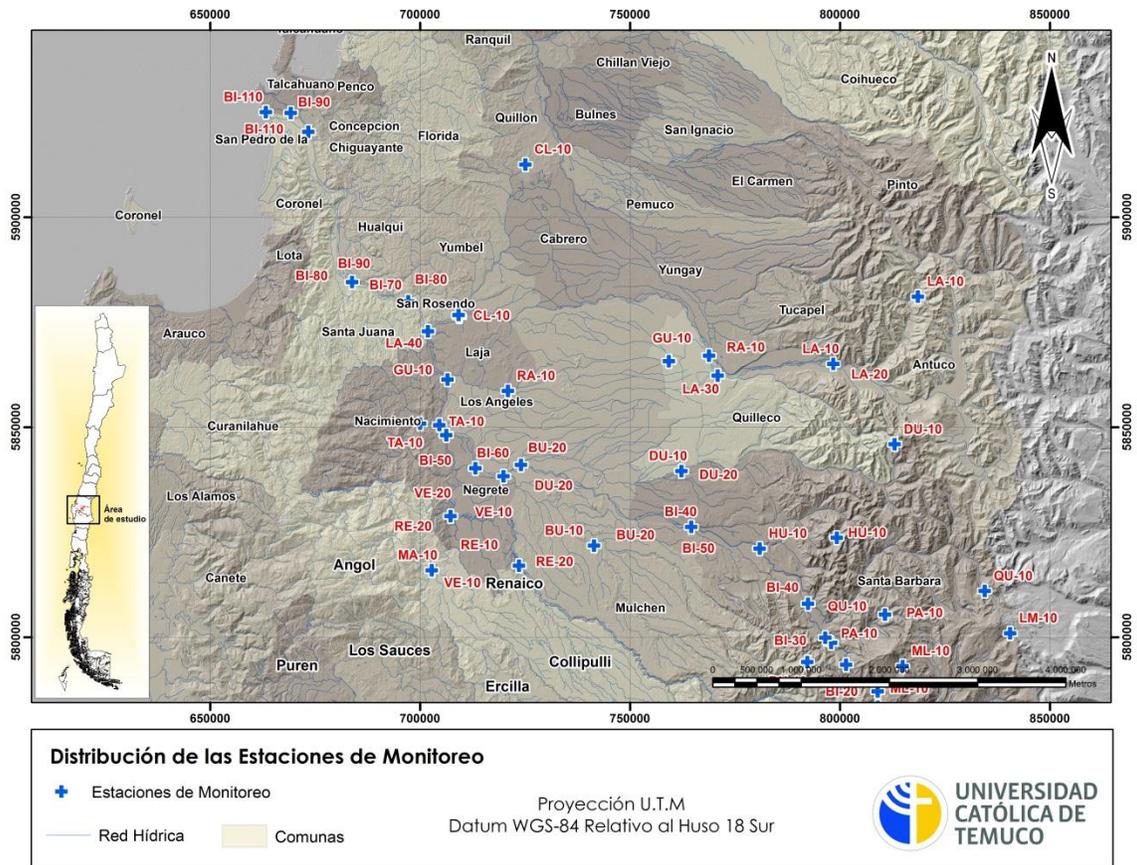
De esta forma con los antecedentes antes mencionados la presente consultoría plantea realizar una evaluación de riesgo ecológico probabilística en la cuenca del río Biobío, uno de los sistemas cuyo anteproyecto de NSCA se encuentra actualmente en evaluación. Se espera que los resultados de esta consultoría permitan i) fortalecer el análisis de los beneficios asociados a la implementación de estos instrumentos de gestión y ii) faciliten la comparación con los costos de implementación de la normativa.

## ÁREA DE ESTUDIO

Administrativamente, esta cuenca está contenida en las regiones del Biobío (67% del área total) y de la Araucanía (33%), los resultados preliminares del último censo poblacional de las comunas que forman parte de la cuenca señala que ésta alcanzaría alrededor de 1.266.000 habitantes (INE 2012). En este sentido son numerosas las actividades económicas que dependen de los procesos y funciones provistas por los cursos principales y secundarios de la red hídrica del río Biobío, destacándose entre ellos la agricultura, el sector pecuario, la acuicultura y pesca deportiva, la extracción de áridos, la industria de celulosa y aserraderos, la agroindustria y el turismo (EULA 2009; CEPAL 2010). Así, en esta cuenca existen más de 5.130 m<sup>3</sup>/s otorgados como de derechos de aprovechamiento de agua, de los cuales un 10% corresponden a derechos del tipo consuntivos y el 90% a derechos no consuntivos. En específico, el uso consuntivo del agua se concentra principalmente en el riego de cultivos agrícola (70%) y en generación de hidroelectricidad (13%) (DGA 2010).

En relación a los servicios básicos, el río Biobío es el gran abastecedor de agua apta para potabilizar, entregando por ejemplo en su sección suministro al Gran Concepción y Talcahuano (Planta la Mochita) (Parra, Valdovinos et al., 2004). De forma conjunta el curso de agua principal de esta cuenca y sus tributarios actúan como medio de dilución para la descarga de 19 Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas (PTAS). Otra característica relevante de este sistema es la elevada capacidad de generación hidroeléctrica, alcanzándose durante el año 2011 una producción de 9.264 GWh (CDEC-SIC), cifra estrecha con respecto a la demanda de esta región (9.272 GWh), siendo su principal consumidor la industria de la celulosa y el papel (36%) y el sector residencial (13%) (INE 2008).

La cuenca del río Biobío (36.75 S - 39 S), la tercera más grande de Chile (24.370 km<sup>2</sup>), presenta un régimen nivo-pluvial, con mínimos caudales hacia principios de otoño (marzo-abril: 180 m<sup>3</sup>/s) e incrementos significativos en los meses invernales (junio-julio: 2.200 m<sup>3</sup>/s), pudiendo, en períodos de retorno de 100 años, alcanzar incluso caudales de 17.000 m<sup>3</sup>/s (Valdovinos y Parra 2006). A lo largo de su red hídrica, distribuida en diez subcuencas conformada en su conjunto por más de 9.200 cursos de agua, el río Biobío va adquiriendo diferentes características, desde un sistema encajonado de fuerte pendiente en la zona alta, hasta configurarse como un cauce ancho (~2 km) de baja velocidad en la zona contigua a su desembocadura en el Golfo de Arauco. La Figura 1 muestra las estaciones de monitoreo de la DGA como del Centro EULA y su distribución en la red hídrica.



**Figura 1. Distribución de las estaciones de monitoreo y red hídricas, Cuenca del Río Biobío**

La cuenca del río Biobío se constituye como un sistema de transición entre las áreas dominadas por los climas Mediterráneo y Templado Húmedo, de forma conjunta su gradiente altitudinal y fuerte influencia del océano pacífico determinan la presencia de una marcado gradiente de precipitaciones, con rangos desde los 1.200 mm al año en la zona costera norte a más de 3.000 mm al año en el sector alto de la cuenca. Otra condición determinantes la aptitud de almacenamiento de nieve de las zonas altas cordilleranas (> 1.500 m), donde prima un clima frío de altura con valores promedios de temperatura inferiores a los 4° C. Asociado a estas condiciones hidrológicas, la cuenca del río Biobío destaca como uno de los sistemas con mayor diversidad de ictiofauna del país, describiéndose en sus ríos alrededor de veintiuna especies, cuatro introducidas y diecisiete nativas, de las cuales siete se encuentran declaradas en peligro de extinción y otras siete como vulnerables (Parra, Valdovinos et al., 2004).

A nivel de usos de suelo y de acuerdo al Catastro y Evaluación de Recursos Vegetacionales Nativos de Chile (CONAF, CONAMA et al., 2011), alrededor un 45% de la cuenca del río

Biobío, principalmente en su fracción alta, se encuentra cubierta por bosque nativo (30% adulto, 15% renoval). En contraste, las áreas de drenaje contenidas en la depresión intermedia y en las zonas bajas, cercanas a la desembocadura, presentan un mosaico dominado por la presencia de extensas áreas asociadas a praderas agropecuarias (30% de la cuenca) y plantaciones forestales (16% de la cuenca), actividad extensiva que en los últimos años ha registrado un fuerte crecimiento espacial. Así entre los años 1999 y 2009 las plantaciones de árboles exóticos tendieron a utilizar áreas de la cuenca habitualmente destinadas a actividades agrícolas. Bajo esta configuración de usos de suelo, un importante porcentaje de la cuenca del río Biobío se encuentra protegido (Parques nacionales: Laguna del Laja, Conguillío, Tolhuaca y Nahuelbuta; Reservas nacionales: Ñuble, Ralco, Altos de Pemehue, Nalcas, Malleco y Alto Biobío) o declarado como áreas prioritarios para la conservación de la biodiversidad (7 sitios), así como también forman parte de la Reserva de la Biosfera "Araucarias" (Parques nacionales: Conguillío, Tohuaca y Nahuelbuta; Reservas nacionales Nalcas, Malleco y Alto Biobío) Figura 2 y Figura 3.

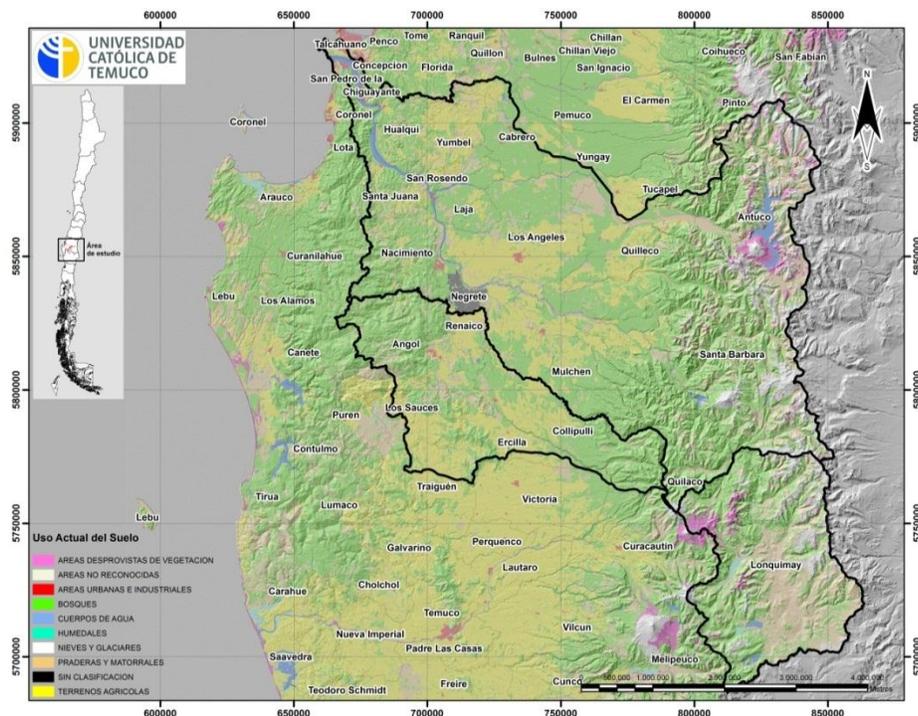


Figura 2. Uso de suelo y delimitación de la cuenca del Río Biobío

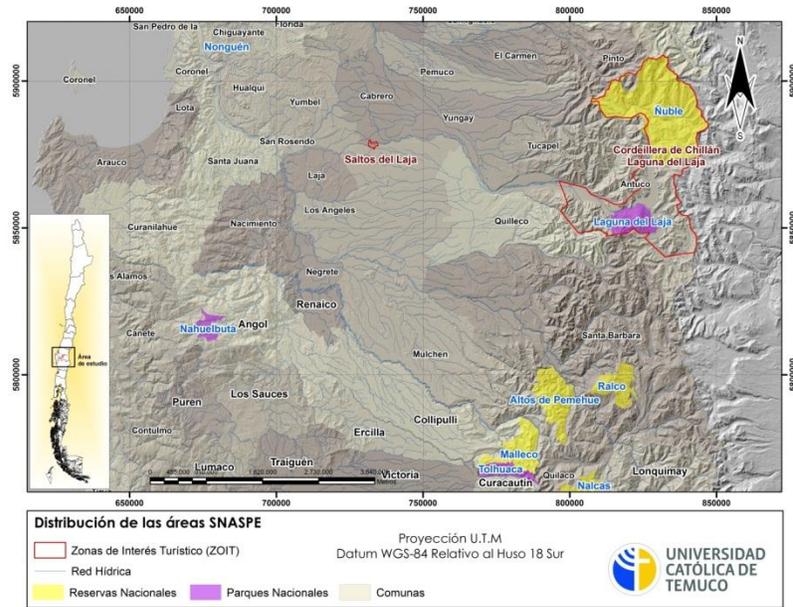


Figura 3. Distribución zonas de interés turístico Cuenca del Río Biobío

### 3 OBJETIVOS

#### Objetivo General

Realizar evaluaciones de riesgo ecológico en cursos de agua de cuenca del río Biobío desde una aproximación probabilística y en base a bioensayos de toxicidad crónica.

#### Objetivos Específico

1. Revisar antecedentes y recopilar niveles de sensibilidad aguda (efectos letales) y crónica (efectos subletales) informados para diversos xenobióticos en especies estandarizadas y locales, en base a estudios previos desarrollados en el país y a nivel internacional.
2. Recopilar y espacializar información actualizada para la cuenca del río Biobío, que permita la caracterización: i) de la estructura comunitaria presente en sus cursos de agua (columna de agua y bentos) y ii) de la estructura de redes tróficas de la cuenca.
3. Mediante un enfoque ecotoxicológico, identificar y seleccionar especies locales de relevancia ecológica, representativas de los diversos niveles tróficos presentes en la cuenca (extrapolación de ERE a nivel comunitario).
4. Considerando especies locales representativas de los diferentes niveles tróficos existentes en la cuenca del río Biobío, determinar niveles de sensibilidad crónica utilizando xenobióticos específicos.
5. Caracterizar el riesgo ecológico para las especies seleccionadas (evaluación de efectos y evaluación de exposición)
6. Determinar, en base a la información teórica recopilada y la realización de bioensayos crónicos, el porcentaje de protección de especies que asegure la conservación de las funciones ecológicas y sostenibilidad de los ecosistemas que conforman la cuenca del río Biobío.
7. En función de los resultados obtenidos, discutir la factibilidad y ventajas que supondría la inclusión de estudios de evaluación de riesgo ecológico en el diseño normativo y en la estimación de los beneficios de las NSCA para la protección de agua superficiales.

## 4 METODOLOGIAS

**Objetivo1 *Revisar antecedentes y recopilar niveles de sensibilidad aguda (efectos letales) y crónica (efectos subletales) informados para diversos xenobióticos en especies estandarizadas y locales, en base a estudios previos desarrollados en el país y a nivel internacional.***

Se efectuó una revisión bibliográfica de la información disponible respecto a los valores de ecotoxicidad (crónicos o agudos) en organismos empleados en bioensayos. Valores que permiten establecer una relación entre la concentración del tóxico presente en el medio y la respuesta observada en los individuos. Para el desarrollo de dicha revisión bibliográfica ecotoxicológica se empleó la información disponible en bases de datos como ECOTOX Database, PAN Pesticides, WQG, NEW ZEALAND ECOTOXICITY y documentos de la Subsecretaría de Recursos Hídricos de Argentina, EPA Water Quality of Criteria y TOXNET, entre otras, correspondiente a NOEC, LOEC, LC<sub>50</sub> empleados en 14 compuestos (Aluminio, Hierro, Cobre, Cromo, Manganeseo, Molibdeno, Zinc, Cadmio, Mercurio, Plomo, Amonio, Oxígeno disuelto, Cloruro, Sulfato.) sobre diferentes órdenes de especies que involucraron el fito y zooplancton, macroinvertebrados, macrófitas y peces.

En Anexo Digital N° 1a y Anexo Digital N° 1b, se pueden ver los valores de referencia y las fuentes de donde se obtuvo la información disponible para cada xenobiótico. El primer anexo muestra los valores con los cuales se trabajó la evaluación de riesgo, y el segundo anexo muestra los valores de las recopilaciones en general. Considerar que en la búsqueda de información se dio preferencia a los xenobiótico con los cuales se realizó la evaluación de riesgo final.

En la información recopilada no se encontraron documentos que hicieran mención a los factores de seguridad empleados. Se deja como referencia el Documento técnico de orientación sobre evaluación de riesgos de la Comisión Europea 2003 (en Anexo Digital N°3).

**Objetivo 2. *Recopilar y espacializar información actualizada para la cuenca del rio Biobío, que permita la caracterización: i) de la estructura comunitaria presente en sus cursos de agua (columna de agua y bentos) y ii) de la estructura de redes tróficas de la cuenca.***

**a) Recopilación de la información disponible**

Se realizó una revisión bibliográfica de toda la información disponible de la cuenca del Río Biobío en términos hidrológicos y limnológicos. Esta información fue clasificada, preliminarmente, según el tipo de publicación (ISI, SCIELO o de divulgación general), en Tesis, estudios, proyectos, propuestas, programas, bases de datos u otro tipo. Además se revisaron Bases de datos sectoriales públicos y privados, de instituciones de investigación y universitarios, los estudios de CADE-IDEPE entre otros. Además, se revisaron bases de datos universales tales como Scopus, WEB Science, ASFA. Finalmente se utilizaron los estudios de línea de base desarrollados en la Región del Biobío. Particularmente se consultó el estudio "Programa de Monitoreo de la Calidad del Agua del Sistema Río Biobío. Informe Técnico" (Parra et al. 2004)

**b) Confección de una base digital para el manejo de datos de la Cuenca del Río Biobío**

Para la elaboración de una base digital de fácil manejo y de rápido uso, la información recopilada para la caracterización de la estructura comunitaria, fue vaciada en fichas bibliográficas indicando para cada publicación los siguientes campos bibliográficos:

- ✓ Autor o autores
- ✓ Año
- ✓ Título
- ✓ Fuente, Revista o Institución que lo publica, volumen, el número de la publicación y el número de páginas.
- ✓ Términos claves
- ✓ Resumen de la publicación en un máximo de 10 líneas.
- ✓ Localización

**Tabla N° 1 Formato Base de Datos Digital Información cuenca río Biobío.**

AUTOR	AÑO	TÍTULO	FUENTE	TÉRMINOS CLAVE	RESUMEN	LOCALIZACIÓN

Este formato permitirá buscar información de la Cuenca del Río Biobío por tema, sólo insertando palabras claves que pueden estar referidas a autor, institución, o términos técnicos.

### **c) Análisis de la información**

Cada Componente Biológico registrado en los estudios derivados de la revisión bibliográfica de la cuenca del río Biobío, fue analizado considerando los siguientes criterios, cuando la información se encontraba disponible:

1. Fuentes
2. Dieta
3. Hábitat
4. Estado de conservación Número de replicas

### **Comunidades biológicas de la Cuenca del Río Biobío**

- Plancton (fito y zoo) y perifiton
- Invertebrados bentónicos
- Flora acuática
- Peces

Las comunidades biológicas fueron caracterizadas con la información recopilada de la revisión bibliográfica. Posteriormente se aplicaron los criterios descritos previamente para la ordenación y validación de la data. Cada componente biológico fue clasificado taxonómicamente, además se caracterizó la estructura comunitaria de cada componente biológico desde el punto de vista de su composición y riqueza.

**Tabla N° 2 Formato Base de Datos Tablas de Información Componentes Biológico cuenca Río Biobío.**

COMUNIDAD BIOLÓGICA	FAMILIA/ESPECIE	FUENTE(S)

## **Riqueza y diversidad específica**

En base a la información colectada y la calidad de los datos no se pudo estimar la riqueza específica, abundancia y el índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ), diversidad máxima ( $H'M$ ) e índice de equitatividad ( $J$ ), esto principalmente ya que no se cuenta con información de los valores absolutos en cuanto a la abundancia de todas las especies presentes en el Río Biobío dificultando la comparación entre los grupos taxonómicos.

Finalmente con la información recopilada se realizó un análisis teóricos de la estructura de las redes tróficas existentes en la cuenca del río Biobío, caracterizando los roles tróficos de las especies identificadas (Anexo Digital N°5). Del análisis de esta base de datos se construyó la matriz de red trófica.

### **d) Estructura de redes tróficas de la cuenca.**

Para la clasificación de los grupos funcionales de los organismos acuáticos presentes en la cuenca del Río Biobío, se utilizaron las bases de datos de riqueza de especies. Las taxa fueron ordenadas y posteriormente se asignó el grupo funcional de acuerdo a los antecedentes recopilados bibliográficamente y posteriormente validada y revisada por expertos en el tema.

Posteriormente, se construyó la matriz trófica, la cual corresponde a una red de interacciones representadas formalmente por objetos matemáticos denominados "grafos", que consisten en una colección de nodos (que representan especies o agrupaciones de especies) y aristas (que representan las interacciones tróficas entre especies).

La representación gráfica de una matriz trófica contiene una enorme cantidad de información que, con el uso de las herramientas de la teoría de grafos (Newman 2010), es potencialmente útil para entender aspectos fundamentales como: (a) la organización global de la comunidad, (b) el rol de cada especie para el mantenimiento de la organización de la comunidad, (c) los efectos esperados de la eliminación de una especie, para la integridad del sistema ecológico.

Para describir la estructura de una matriz trófica, se utilizan índices que miden algún aspecto de la organización de sus componentes. Los dos índices más sencillos y ampliamente utilizados en mallas tróficas son la conectancia y el tamaño de la red. Conectancia ( $C$ ) es la fracción observada sobre el total de interacciones posibles en la red. Se mide como  $C=L/S^2$ ,

donde L es el número de aristas (interacciones tróficas) registrada en la malla y S es el tamaño de la red dado por número de nodos que ésta contiene. La conectancia, junto al tamaño de la red, es una medida de la complejidad del ecosistema y define un número importante de propiedades estructurales (Dunne et al. 2002a) y dinámicas (Dunne et al. 2002b). Este análisis es realizado mediante el software Pajek Program for Analysis and Visualization of Large Networks.

**Objetivo 3. *Mediante un enfoque ecotoxicológico, identificar y seleccionar especies locales de relevancia ecológica, representativas de los diversos niveles tróficos presentes en la cuenca (extrapolación de ERE a nivel comunitario).***

**Reconocimiento preliminar de especies de relevancia ecológica**

El reconocimiento preliminar de estas especies se llevó a cabo mediante la aplicación de los siguientes criterios:

- a) Disponibilidad en el ambiente (abundancia).
- b) Grupo funcional y su importancia en el sistema (densidad).
- c) Especies consideradas por un panel de expertos derivado su conocimiento particular, específicamente: biología, etología y manejo.

**Taller de consulta a expertos “Lista priorizada de especies de importancia ecológica como potenciales bioindicadores”**

Posterior al reconocimiento y selección preliminar de las especies claves, de mayor representatividad y relevancia ecológica, se efectuó, mediante metodología Delphi, un taller de consulta a expertos que involucraron áreas tales como taxonomía, ecología y bioensayos, ello con el objeto de discutir y validar la lista de especies de importancia ecológica viables para ser seleccionadas como bioindicadores, generando de esta forma la selección definitiva de las especies a considerar.

Los criterios considerados para la selección de especies representativas de la cuenca del Río Biobío fueron:

- Criterio 1: Especies posibles de Cultivar o Mantener en laboratorio.
- Criterio 2: Especies que dadas sus características son consideradas como indicadores de buena calidad de aguas.

- Criterio 3. Relevancia ecológica de cada una de las especies en estudio. Este criterio se subdividió por abundancia y por rol trófico.

Finalmente en reunión realizadas el lunes 9 de septiembre de 2013 donde asistieron:

Hernán Latuz, Profesional Departamento de Asuntos Hídricos.

Jorge Gómez, Profesional Departamento de Economía Ambiental.

Amerindia Jaramillo, Profesional Departamento de Economía Ambiental.

Francisco Encina M, Consultor-Docente Universidad Católica de Temuco.

Se establecieron como xenobióticos a ensayar: Hierro, Aluminio, Cromo, Cloruros y Oxígeno Disuelto.

**Objetivo 4. Considerando especies locales representativas de los diferentes niveles tróficos existentes en la cuenca del río Biobío, determinar niveles de sensibilidad crónica utilizando xenobióticos específicos.**

La determinación de los niveles de sensibilidad de especies nativas mediante bioensayos de toxicidad, resulta fundamental realizar las estandarizaciones que permitan establecer una metodología común en relación, tanto a los parámetros de cultivo (reclutamiento, mantención y cultivo masivo de los organismos) como a los experimentales, que aseguren la reproducibilidad del experimento, permitiendo así comparar los resultados generados. El uso de especies estandarizadas en la determinación de los niveles de sensibilidad no siempre representa la zona de estudio específica que se está evaluando. Los antecedentes muestran que cada cuerpo de agua representa un ecosistema único con dinámicas propias por lo que el uso de especies nativas para determinar la sensibilidad de ellas es fundamental para las propuestas de normas secundarias. Por lo tanto el uso de especies estandarizadas para determinar niveles de sensibilidad debiera estar sujeta a la determinación de factores de corrección entre ambos tipos de especies que permita proteger efectivamente el ecosistema acuático.

En la reunión establecida el Lunes 9 de septiembre de 2013, antes mencionada quedo establecido considerar aspectos de los peces previamente seleccionados para los

bioensayos, ya que las abundancias presentes en forma natural en los afluentes del río Biobío no permitieron alcanzar un número adecuado de los ejemplares previamente seleccionados para los ensayos.

Por otra parte dado los problemas asociados a la captura de ejemplares las especies a ensayar son: *Selenastrum capricornutum*, *Daphnia pulex*, *Galaxias maculatus*, Ephemeropteros y *Lemna valdivian*.

Considerar que por aspectos más explicativos en los resultados de este objetivo se comienza con metodologías de cada uno de los ensayos comprometidos.

**Objetivo 5. Caracterizar el riesgo ecológico para las especies seleccionadas (evaluación de efectos y evaluación de exposición).**

La determinación de valores de protección ambiental y aplicación de Evaluación de Riesgo Ecológico se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Medina & Encina (2004) que incluye las siguientes etapas: a) Identificación del peligro: etapa en la cual se formula el problema y se identifican las características de la sustancia y sus potenciales efectos, además se identifican los componentes del ecosistema expuesto y aquello que se debe proteger; b) Evaluación del Efecto donde se determina la concentración sin efecto ecológico (PNEC), para lo cual se utilizaron las bases de datos con valores de toxicidad para especies estandarizadas; c) Evaluación de la exposición, etapa en la cual se mide o estima la concentración ambiental esperada (PEC), para la evaluación de la exposición (PEC) se utilizaron los antecedentes recopilados de bases de datos disponibles; d) Caracterización del riesgo, etapa en la cual se integran los tres pasos anteriores y calcula el riesgo implicado. De acuerdo al nivel de información se calcula la probabilidad de que los efectos ocurran por la presencia actual o futura del contaminante. De esta forma, los valores de protección y factores de seguridad se calcularon mediante una metodología probabilística, incorporando todos los resultados de sensibilidad, mediante el método de van Straalen y Denneman (1989) calculando el HCp (Hazardous Concentration for P% de especies de una comunidad).

Finalmente la estimación del riesgo ecológico se realizó mediante el cociente PEC/PNEC (Comisión de las Comunidades Europeas, el 1996; Medina & Encina, 2004) utilizando el conjunto de resultados de efectos LC50 y NOEC para especies nativas y especies estandarizadas.

Las pruebas de hipótesis para la comparación de resultados se realizarán mediante un análisis de varianza (ANOVA) permitiendo establecer los factores de evaluación más adecuados a ser utilizados en Chile, todos los análisis estadísticos se efectuarán mediante el software XLStat.

Se realiza una comparación de los niveles de sensibilidad (NOEC) entre las especies estandarizadas y especies locales, esto se efectuaron comparando sus funciones de distribución (percentiles) y mediante comparación de medias entre los niveles tróficos. La estimación del riesgo ecológico se realizó mediante el cociente PEC/PNEC (Comisión de las Comunidades Europeas, el 1996; Medina & Encina, 2004) empleando el conjunto de resultados de efectos crónicos (NOEC) para especies nativas y especies estandarizadas.

***Objetivo 6. Determinar, en base a la información teórica recopilada y la realización de bioensayos crónicos, el porcentaje de protección de especies que asegure la conservación de las funciones ecológicas y sostenibilidad de los ecosistemas que conforman la cuenca del río Biobío.***

La determinación de niveles de protección se efectuó a partir de una evaluación de riesgo ecológico para el área en estudio considerando la variabilidad e incertidumbre, para ello Van Straalen & Denneman (1989) proponen el cálculo del HC<sub>5</sub>, que corresponde a un valor que protege al 95% de las especies consideradas. Para la estimación delo HC<sub>5</sub> se utilizó el programa TX2 v1 del 2004 desarrollado por el National Institute of Public Health and the Environmental de Holanda.

Posterior a la evaluación de efectos y evaluación de exposición se estimaron los valores que permitan proteger de 0 a 100% (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 66%, 70%, 80% 90%, 95% y 99% de las especies. Se compararon los factores de seguridad de acuerdo a los resultados y la variabilidad de la exposición. Finalmente se propone un factor de seguridad que permita proteger a nivel crónico pero utilizando valores agudos (LC50). Se calculó y compararon los niveles de protección determinados en este estudio sobre la base de ensayos crónicos y se estimó el nivel de protección que tiene actualmente el proyecto de norma secundaria. Finalmente se utiliza un Factor de Seguridad de acuerdo a las recomendaciones de la ASTM y Comunidad Europea, apropiado para implementar la Evaluación de Riesgo Ecológico como Herramienta de Gestión ambiental en apoyo a los procesos de elaboración de Normas Secundarias de Calidad Ambiental en Chile.

## 5 RESULTADOS

### Componente 1. Recopilación de niveles de sensibilidad aguda y crónica para diversos xenobióticos en especies estandarizadas y locales, en base a estudios previos desarrollados en el país y a nivel internacional.

Las bases de datos provienen por un lado de información entregada por el Ministerio del Medio Ambiente (MMA) a la contraparte, el cual cuenta con una base previa de la cuenca del Río Valdivia (información trabajada previamente por la contraparte) y de la cuenca del Río Biobío, y en segundo lugar una base de datos elaborada por el grupo de investigadores UCT.

Se debe considerar que algunos xenobióticos no son considerados ya que no se encontraron registros bibliográficos en las bases de datos revisadas, dando preferencias a los comprometidos para los bioensayos.

De la base de dato MMA se puede resumir lo siguiente:

**Tabla N° 3 Estadística descriptiva de niveles de sensibilidad (bioensayos agudos y crónicos) para el Phylum Arthropoda, en ug/L base MMA**

Phylum	Promedio	Máximo	Mínimo	Desvest
<b>Arthropoda</b>	<b>1357,38</b>	<b>150000,00</b>	<b>0,01</b>	<b>7684,29</b>
<b>ec50</b>				
COBRE	133,82	500,00	1,60	118,96
HIERRO	39,01	100,26	5,20	29,74
MANGANESO	40,00	40,00	40,00	0,00
ZINC	2,60	4,31	1,32	1,13
<b>IC50</b>				
COBRE	10,00	15,00	5,00	7,07
<b>LC50</b>				
ALUMINIO	12,86	38,20	1,61	13,24
CADMIO	7601,00	11045,00	85,00	4973,53
COBRE	64,70	406,00	1,00	65,81
DIELDRIN	405,75	405,75	405,75	0,00
ENDRIN	47,75	47,75	47,75	0,00
FENOLES	28037,20	28038,00	28037,00	0,45
HIERRO	86,16	500,00	2,80	107,82
LINDANO	434,75	434,76	434,75	0,00
MANGANESO	171,28	1300,00	1,00	329,91
MERCURIO	1136,67	1364,00	0,01	556,85
NH3+NH4	37981,20	49142,00	35191,00	6239,08
NIQUEL	6470,00	6470,00	6470,00	0,00
PLOMO	7928,00	7928,00	7928,00	0,00
ppDDD	5,50	5,50	5,49	0,00
ppDDT	19491,00	19491,00	19491,00	0,00
ZINC	638,55	3215,00	1,59	1178,09
<b>LOEC</b>				
ARSENICO	973,33	1800,00	560,00	715,91

COBRE	117,65	279,00	5,60	80,87
HIERRO	1,31	1,31	1,31	0,00
ZINC	408,00	408,00	408,00	0,00
<b>LOEL</b>				
COBRE	66,00	100,00	32,00	39,26
ZINC	39,78	68,19	11,37	40,18
<b>MATC</b>				
COBRE	8,50	11,00	5,00	2,67
HIERRO	646,00	960,00	18,00	543,86
<b>NOEC</b>				
ALUMINIO	1,89	1,89	1,89	0,00
ARSENICO	480,00	560,00	320,00	138,56
CADMIO				
COBRE	83,66	228,00	4,00	60,79
HIERRO	700,00	700,00	700,00	0,00
MANGANESO	11,00	28,00	1,10	14,79
NH3+NH4	20283,00	20283,00	20283,00	0,00
ppDDT	0,18	0,18	0,18	0,00
ZINC	249,05	900,00	120,50	287,18
<b>NOEL</b>				
COBRE	59,33	180,00	10,00	62,63
ZINC	30,30	56,82	9,09	24,30
<b>NR</b>				
ALUMINIO	561,00	561,00	561,00	0,00
COBRE	50,92	180,00	4,45	42,93
HIERRO	83,36	269,14	1,31	102,13
ZINC	271,73	1350,00	1,14	334,69

**Tabla N° 4. Estadística descriptiva de niveles de sensibilidad (bioensayos agudos y crónicos) para Phylum Chordata ug/L base MMA.**

Phylum	Promedio	Máximo	Mínimo	Desvest
<b>Chordata</b>	<b>150078,73</b>	<b>56000000,00</b>	<b>0,04</b>	<b>2707101,65</b>
<b>LC50</b>				
ALUMINIO	9035,35	137667,00	15,00	34317,45
AMONIO	0,55	0,80	0,27	0,19
ARSENICO	123,94	265,00	53,00	69,81
CADMIO	2554,88	9417,75	30,00	3974,99
COBRE	65,96	212,00	10,00	62,04
DIELDRIIN	427,99	1672,00	12,78	767,82
ENDRIN	353,77	491,00	10,68	234,37
FENOLES	30194,50	58800,00	11155,00	14348,73
FOSFORO	52,71	59,00	37,00	10,73
HCT	188630,00	188630,00	188630,00	0,00
HIERRO	203618,55	500000,00	1,22	246834,29
LINDANO	410,68	735,00	38,59	343,56
MANGANESO	1021,90	6000,00	0,04	1546,89
MERCURIO	141,33	570,00	5,00	161,02
MOLIBDENO	706910,00	706910,00	706910,00	0,00
NH3+NH4	22359,13	39638,00	1550,00	11928,42
NIQUEL	96381,83	201444,44	12,05	69517,58

PLOMO	14000861,90	56000000,00	1,61	27999425,41
ppDDD	21730,00	30394,00	70,00	14796,60
ppDDT	729,82	1153,00	23,29	584,05
SULFATO	19364,30	38667,00	61,60	27298,14
ZINC	9082,67	209000,00	1,00	39752,23
<b>LOEC</b>				
ARSENICO	47500,00	63000,00	32000,00	21920,31
<b>LT50</b>				
ALUMINIO	154,00	400,00	20,00	153,56
<b>NOEC</b>				
ALUMINIO	1004,75	3567,00	60,00	1709,37
ARSENICO	19657,67	40000,00	973,00	19566,24
CADMIO	99,25	440,00	0,06	190,83
DIELDRIN	0,55	0,55	0,55	0,00
FENOLES	1817,00	3150,00	118,00	1255,72
HIERRO				
LINDANO	56,00	56,00	56,00	0,00
MANGANESO	2460,00	2460,00	2460,00	0,00
MERCURIO	500,00	500,00	500,00	0,00
NH3+NH4	281,00	281,00	281,00	0,00
NIQUEL	125000,00	125000,00	125000,00	0,00
PLOMO	324,23	450,00	9,80	214,80
ppDDT	113000,00	113000,00	113000,00	0,00
ZINC	347,22	771,00	9,72	261,64
<b>NR</b>				
ALUMINIO	148,24	397,53	2,00	174,29
ARSENICO	31340,33	94000,00	1,00	54264,86
HIERRO	1899,28	5700,00	5,00	2611,64
MANGANESO	470,00	700,00	150,00	233,45
MERCURIO	26,00	42,00	18,00	13,86
PLOMO	0,00	0,00	0,00	0,00
ZINC	168,04	599,00	2,00	206,66

Tabla N° 5 Estadística descriptiva de niveles de sensibilidad (bioensayos agudos y crónicos) para los reinos Plantae, Protista y el Phylum Rotifera en ug/L base MMA.

Grupo	Promedio	Máximo	Mínimo	Desvest
<b>Plantae</b>	<b>185,74</b>	<b>1000,00</b>	<b>1,00</b>	<b>303,38</b>
<b>ec50</b>				
ALUMINIO	2,50	2,50	2,50	0,00
<b>LT50</b>				
COBRE	6,00	6,00	6,00	0,00
<b>NR</b>				
COBRE	278,86	1000,00	9,55	413,27
MANGANESO	500,00	500,00	500,00	0,00
ZINC	81,53	323,10	1,00	161,05
<b>Protista</b>	<b>157,68</b>	<b>983,00</b>	<b>0,00</b>	<b>235,79</b>
<b>ec50</b>				

COBRE	375,38	983,00	1,97	340,59
ZINC	96,50	178,00	15,00	94,11
<b>EC90</b>				
COBRE	71,77	72,10	71,50	0,31
<b>IC50</b>				
COBRE	31,07	200,00	3,40	42,16
ZINC	15,26	21,26	6,54	7,73
<b>LC50</b>				
COBRE	285,75	476,25	190,50	134,70
<b>LOEC</b>				
HIERRO	6,00	6,00	6,00	0,00
<b>NOEC</b>				
HIERRO	3,00	3,00	3,00	0,00
<b>NR</b>				
ALUMINIO	20,72	30,00	2,16	16,07
COBRE	74,86	211,01	0,00	74,40
HIERRO	208,00	520,00	10,00	271,33
ZINC	104,41	343,35	1,31	131,15
<b>Rotíferos</b>	<b>44,73</b>	<b>276,00</b>	<b>3,00</b>	<b>87,44</b>
<b>LC50</b>				
ALUMINIO	3,00	3,00	3,00	0,00
COBRE	50,60	200,00	6,00	83,74
<b>LOEC</b>				
COBRE	7,50	10,00	5,00	3,54
<b>LOEL</b>				
HIERRO	23,50	23,50	23,50	0,00
<b>NR</b>				
AMONIO	5,00	5,00	5,00	0,00
<b>NR-</b>				
AMONIO	139,50	276,00	3,00	193,04

**Tabla N° 6 Estadística descriptiva de niveles de sensibilidad (bioensayos agudos y crónicos) para el Phylum Mollusca, ug/L base MMA.**

Phylum	Promedio	Máximo	Mínimo	Desvest
<b>Mollusca</b>	<b>47565,29</b>	<b>1000000,00</b>	<b>11,84</b>	<b>145954,10</b>
<b>LC50</b>				
ALUMINIO	14200,00	55500,00	100,00	27534,34
AMONIACO	1734,00	1734,00	1734,00	0,00
AMONIO	113300,00	113300,00	113300,00	0,00
CADMIO	2674,22	5000,00	948,33	1341,14
DIELDRIN	117,00	117,00	117,00	0,00
ENDRIN	8756,00	12000,00	7134,00	2809,39
FENOLES	308805,50	1000000,00	95666,67	340895,04
HIERRO	12090,00	12090,00	12090,00	0,00
LINDANO	3456,67	3692,00	2986,00	407,61
MERCURIO	574,02	700,00	196,07	251,97
NH3+NH4	106433,00	106433,00	106433,00	0,00
NIQUEL	1610,00	1610,00	1610,00	0,00
ppDDT	3500,00	3500,00	3500,00	0,00
ZINC	4176,67	9560,00	300,00	3006,12
<b>LC50</b>				
CADMIO	80,00	80,00	80,00	0,00
<b>NOEC</b>				
ALUMINIO	500,00	500,00	500,00	0,00
ARSENICO	65,00	65,00	65,00	0,00
CADMIO	68,75	68,75	68,75	0,00
PLOMO	30,92	50,00	11,84	26,98

Como se mencionó anteriormente también se revisaron otras fuentes de información con el fin de complementar la base de datos ya existente y contribuir de esta manera a maximizar la data.

A continuación se muestra un resumen de los promedios de valores registrado para cada taxa.

**Tabla N° 7 Estadística descriptiva de niveles de sensibilidad (bioensayos agudos y crónicos) para determinadas taxa, ug/L base UCT.**

	Endpoint	Promedio	Máx.	Mín.	Desvest
<b>Algae</b>		<b>11007,25</b>	<b>202000,00</b>	<b>1,90</b>	<b>43148,40</b>
<b>Ar</b>	EC50	33721,43	202000,00	50,00	75049,95
	NOEC	770,00	770,00	770,00	0,00
<b>Cr</b>	EC50	100,00	100,00	100,00	0,00
	LOEC	50,00	50,00	50,00	0,00
	NOEC	72,60	110,00	20,00	42,53
<b>Cu</b>	LC50	437,28	1600,00	9,90	775,68
<b>DBO5</b>	CL50	638,65	1275,40	1,90	900,50
<b>Zn</b>	LC50	1800,00	1800,00	1800,00	0,00
<b>Anfibios</b>		<b>51853,79</b>	<b>130000,00</b>	<b>0,30</b>	<b>59612,69</b>
<b>Cu</b>	LC50	1120,00	1120,00	1120,00	0,00
<b>NiCl26H2O</b>	CL50	1,36	2,42	0,30	1,50
<b>Zn</b>	LC50	103333,33	130000,00	70000,00	30550,50
<b>Annelido</b>		<b>17399,63</b>	<b>127400,00</b>	<b>0,00</b>	<b>26114,22</b>
<b>Ar</b>	LC50	23908,33	127400,00	1500,00	50745,19
<b>C6H6Cl6</b>	CL50	1200,00	1200,00	1200,00	0,00
<b>C9H11Cl3NO3PS</b>	CL50	1250,00	1250,00	1250,00	0,00
<b>Cr</b>	NOEC	500,00	1000,00	0,00	707,11
<b>Cu</b>	LC50*	1195,00	2300,00	90,00	1562,71
<b>Mg</b>	LC50*	1450,00	1900,00	1000,00	636,40
<b>Zn</b>	LC50	25272,73	42000,00	6000,00	13312,33
	LC50*	19800,00	21200,00	18400,00	1979,90
<b>Arthropoda</b>		<b>810,00</b>	<b>810,00</b>	<b>810,00</b>	<b>0,00</b>
<b>Ar</b>	LC50	810,00	810,00	810,00	0,00
<b>Bacteria</b>		<b>626,00</b>	<b>626,00</b>	<b>626,00</b>	<b>0,00</b>
<b>Pb</b>	LOEC	626,00	626,00	626,00	0,00
<b>Cladocero</b>		<b>0,29</b>	<b>1,40</b>	<b>0,00</b>	<b>0,54</b>
<b>C15H11 N</b>	CL50	0,07	0,07	0,07	0,00
<b>C5H10N2O2S</b>	VC	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>CaCO3</b>	CL50	250,00	25,00	0,00	0,00
<b>Cr6</b>	VC	0,10	0,20	0,01	0,14
<b>Cu</b>	CL50	1,40	1,40	1,40	0,00
<b>K2CR2O7</b>	CL50	0,08	0,08	0,08	0,00
<b>Crustacea</b>		<b>3038,21</b>	<b>192200,00</b>	<b>0,00</b>	<b>16321,70</b>
<b>Al</b>	EC50	38200,00	38200,00	38200,00	0,00
	LC50	9811,11	36900,00	400,00	12419,08
	NOEC	160,00	160,00	160,00	0,00
<b>Ar</b>	EC50	737,00	870,00	491,00	213,28
	LC50	1867,06	10960,00	1,00	2896,74
	LOEC	8400,00	15000,00	1800,00	9333,81
<b>Ar</b>	NOEC	2181,67	8000,00	320,00	2926,91
	LC50	1638,00	1638,00	1638,00	0,00
<b>B</b>	NOEC				
<b>Cd</b>	CL50	0,01	0,01	0,01	0,00
<b>CN-</b>	EC50	5,90	25,00	0,10	8,42
<b>Cr</b>	EC50	4062,22	25000,00	9,00	7407,52
	LC50	25,00	41,00	9,00	22,63
	LOEC	33,00	56,00	10,00	32,53
	NOEC	4400,61	40000,00	4,70	11371,80
<b>Cu</b>	LC50	2619,91	192200,00	0,00	19252,64
	LC50*	1055,00	1200,00	910,00	205,06
<b>Mg</b>	LC50	2842,47	32000,00	6,00	8314,92
	LC50*	50,00	90,00	10,00	56,57
<b>Ni</b>	CL50	24,20	24,20	24,20	0,00
<b>PI</b>	CL50	16,56	16,56	16,56	0,00
<b>Zn</b>	LC50	4446,41	50620,00	30,00	10814,92
	LC50*	9150,00	10200,00	8100,00	1484,92
<b>DIATOMEAS</b>		<b>84,21</b>	<b>480,00</b>	<b>10,00</b>	<b>117,74</b>

Cu		22,50	50,00	10,00	18,93
Mg	NOEC				
	LC50	108,90	480,00	30,00	132,42
<b>Gastropoda</b>		<b>30600,00</b>	<b>30600,00</b>	<b>30600,00</b>	<b>0,00</b>
Al	LC50	30600,00	30600,00	30600,00	0,00
<b>Insecto</b>		<b>9872,26</b>	<b>99600,00</b>	<b>1,32</b>	<b>16701,30</b>
(NH4)H2PO4	CL50	1,32	1,32	1,32	0,00
Al	LC50	600,00	1000,00	400,00	346,41
C2H8NO2PS	CL50	4,50	4,50	4,50	0,00
CdCl2	CL50	132,00	132,00	132,00	0,00
CH3(CO)CH4	CL50	25,00	25,00	25,00	0,00
	LC50	15569,72	99600,00	180,00	22825,83
Cu	LC50*	5630,00	12100,00	30,00	4904,94
DBO5	CL50	19,70	19,70	19,70	0,00
HgCl2	CL50	127,00	127,00	127,00	0,00
	LC50	3940,32	32300,00	30,00	6405,95
Mg	LC50*	1880,00	5600,00	20,00	2157,67
Pb3(NO2)	CL50	18730,00	18730,00	18730,00	0,00
	LC50	11571,43	27500,00	3800,00	7009,82
Zn	LC50*	36433,33	62600,00	18200,00	19151,88
<b>Invertebrates</b>		<b>2010,90</b>	<b>14000,00</b>	<b>18,00</b>	<b>4052,76</b>
Al	LC50	3000,00	3000,00	3000,00	0,00
Cu	LC50	88,08	510,00	18,00	116,53
Mg	LC50	197,75	610,00	60,00	274,83
Zn	LC50	7724,44	14000,00	1080,00	5314,67
<b>Molluscos</b>		<b>7751,51</b>	<b>135000,00</b>	<b>10,00</b>	<b>22489,56</b>
(NH4)H2PO4	Cl50	1423,00	1423,00	1423,00	0,00
Al	LC50	600,00	1000,00	400,00	300,00
	EC50	12200,00	12200,00	12200,00	0,00
	LC50	24500,00	24500,00	24500,00	0,00
	LOEC	50,00	50,00	50,00	0,00
Ar	NOEC	100,00	100,00	100,00	0,00
C2H8NO2PS	Cl50	608,00	608,00	608,00	0,00
C6H6Cl6	CL50	750,00	750,00	750,00	0,00
C9H11Cl3NO3PS	CL50	750,00	750,00	750,00	0,00
CH2N8OP2S	CL50	500,00	500,00	500,00	0,00
Cr	NOEC	110,00	110,00	110,00	0,00
Cu	LC50	15989,41	135000,00	30,00	38303,39
	LC50*	4050,00	9300,00	900,00	3837,97
H2SO4	CL50	187,50	225,00	112,50	64,95
K2Cr2O7	CL50	10,00	10,00	10,00	0,00
	LC50	2647,00	10000,00	10,00	4082,98
Mg	LC50*	2395,00	6300,00	80,00	2730,83
Zn	LC50	3732,78	11810,00	20,00	2928,81
	LC50*	19775,00	28100,00	14000,00	6101,57
<b>Pez</b>		<b>16306,01</b>	<b>500000,00</b>	<b>0,00</b>	<b>61416,79</b>
(NH4)H2PO4	CL50	20,56	20,56	20,56	0,00
AASS	CL50	13,86	13,86	13,86	0,00
Al	LC50	5745,48	36000,00	40,00	11761,41
	EC50	25600,00	25600,00	25600,00	0,00
	LC50	32726,09	133000,00	490,00	29194,29
	LOEC	50245,00	100000,00	25,00	37145,12
Ar	NOEC	36500,00	56000,00	18000,00	15864,01
B	NOEC				
C2H8NO2PS	CL50	14,63	19,12	10,13	6,36
C7H15N3O2S2	CL50	6,75	6,75	6,75	0,00
C7H15N3O2S3	CE50	7,80	7,80	7,80	0,00
C7H15N3O2S4	CL50	0,02	0,02	0,02	0,00
C7H15N3O2S5	CE50	0,02	0,02	0,02	0,00
Cd2	CL50	0,33	0,33	0,33	0,00
	LC50	20650,00	37900,00	3400,00	24395,18
	LOEC	45866,67	100000,00	5600,00	48703,73
Cr	NOEC	7531,18	56000,00	10,00	16915,88
	LC50	2974,31	73400,00	0,00	8111,14
	LC50*	118,33	250,00	49,00	114,08
Cu	NOEC	25,00	25,00	25,00	0,00
DBSS	CL50	13,91	13,91	13,91	0,00
Fe	LC50	333782,50	500000,00	560,00	245519,79
Mg	EC50	6,70	6,70	6,70	0,00

	LC50	746,05	6148,00	10,43	1194,91
	LOEC	31,60	63,10	8,20	21,36
	NOEC	21,41	69,30	2,50	18,30
<b>Zn</b>	LC50	22539,01	175000,00	0,01	39497,30
	LC50*	104558,00	209000,00	116,00	147703,29
	<b>Platyhelminthes</b>	<b>146,50</b>	<b>270,00</b>	<b>23,00</b>	<b>174,66</b>
<b>Al</b>	LC50	23,00	23,00	23,00	0,00
<b>Mg</b>	LC50	270,00	270,00	270,00	0,00
	<b>Rotifera</b>	<b>2440,60</b>	<b>4800,00</b>	<b>3,00</b>	<b>2217,96</b>
<b>Al</b>	LC50	3,00	3,00	3,00	0,00
<b>Zn</b>	LC50	3050,00	4800,00	1300,00	2020,73
	<b>Plantae</b>	<b>425,00</b>	<b>600,00</b>	<b>250,00</b>	<b>247,49</b>
<b>C6H6Cl6</b>	CE50	600,00	600,00	600,00	0,00
<b>C9H11Cl3NO3PS</b>	CE50	250,00	250,00	250,00	0,00

## Componente 2. Caracterización teórica de la estructura comunitaria y de redes tróficas existentes en la cuenca del río Biobío.

### 1. Listado de especies presentes en la columna y bentos del Río Biobío

En base a la revisión bibliográfica efectuada para la cuenca del Río Biobío, se elaboró un listado relativo a las especies presentes en la columna y bentos de la zona en estudio. Esta información ha sido organizada y tabulada de acuerdo a las diferentes "comunidades biológicas" existentes en el área, es decir, Plancton (Fito y Zoo), Invertebrados Bentónicos, Peces y Macrófitas Acuáticas. La información detalla la familia/especie, según el nivel de información entregado por los estudios en análisis y la fuente de la cual emanan estos antecedentes Anexo Digital N° 2 (formato Excel).

Los estudios, investigaciones, publicaciones, tesis, proyectos o programas de los cuales emanan los antecedentes compilados en este listado se encuentran en formato Adobe Catálogo de fuentes bibliográficas relativas a la caracterización de la estructura comunitaria de la cuenca del Río Biobío (Anexo Digital 4. Planilla Excel).

A partir de la información recopilada se generó una ficha que contiene el autor, año, título, la fuente de la información obtenida, algunos términos claves y un pequeño resumen del documento analizado.

### 2. Espacializar la información recopilada, mediante la generación de mapas de distribución teórica de especies presentes en la cuenca del río Biobío.

Con la información recopilada se generan los mapas de distribución teórica de las especies con la cual se cuenta información, de esta manera se realizaron los mapas de las especies de peces (Figura N°4) presentes en la cuenca y de los crustáceos *Aeglas sp.* (Figura N° 5)

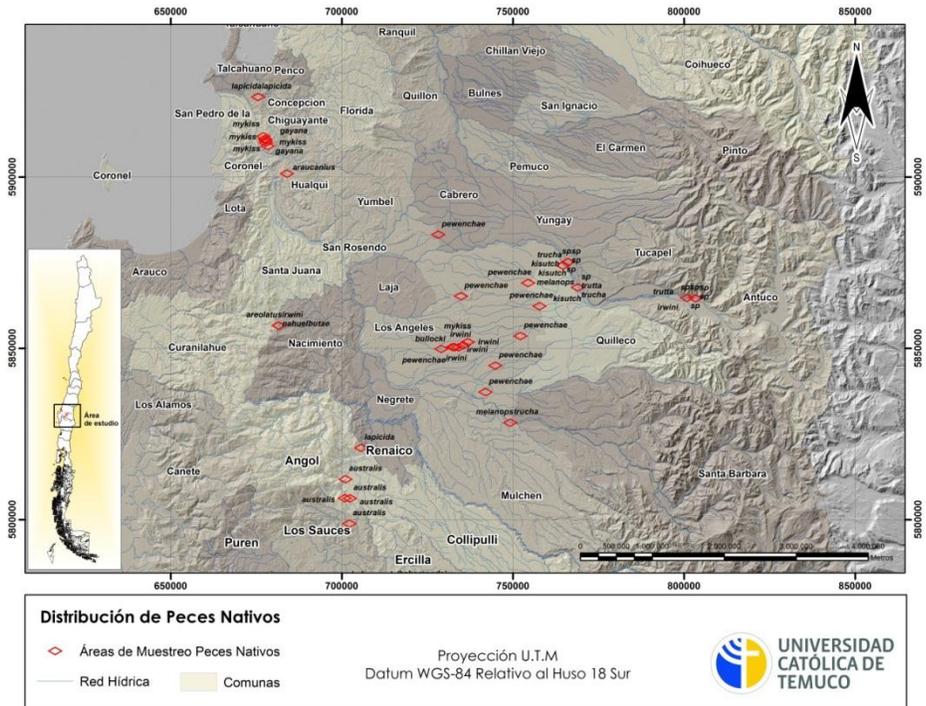


Figura 4. Distribución de peces nativos, Cuenca del Río Biobío

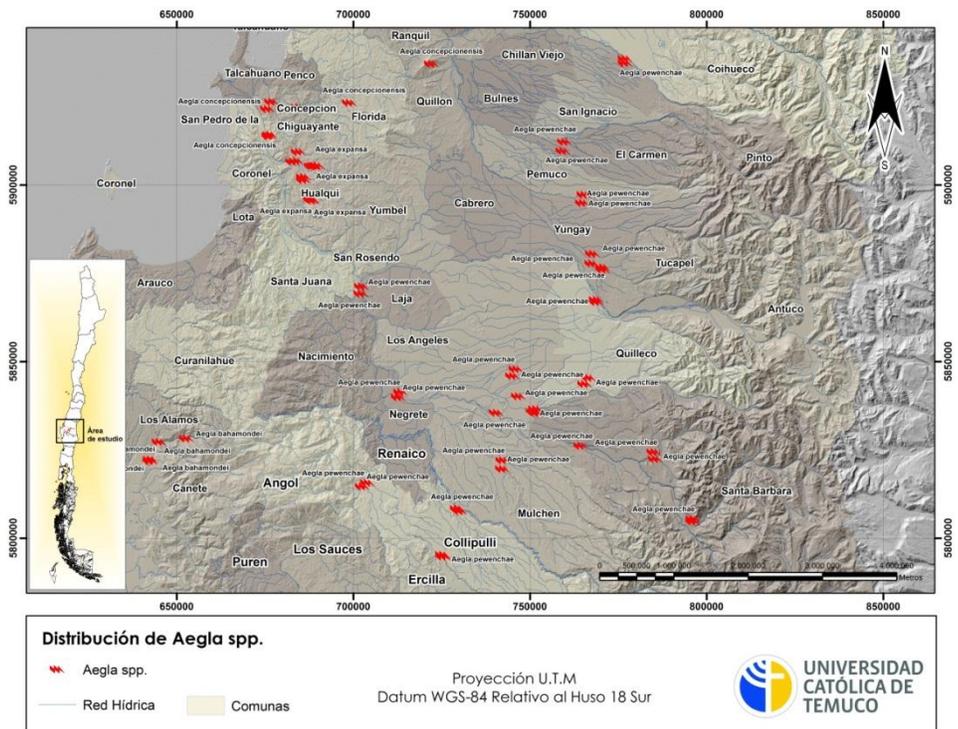


Figura 5. Distribución de Aeglas sp., Cuenca del Río Biobío

3. Análisis teóricos de la estructura de las redes tróficas existentes en la cuenca del río Biobío, caracterizando los roles tróficos de las especies identificadas en el numeral

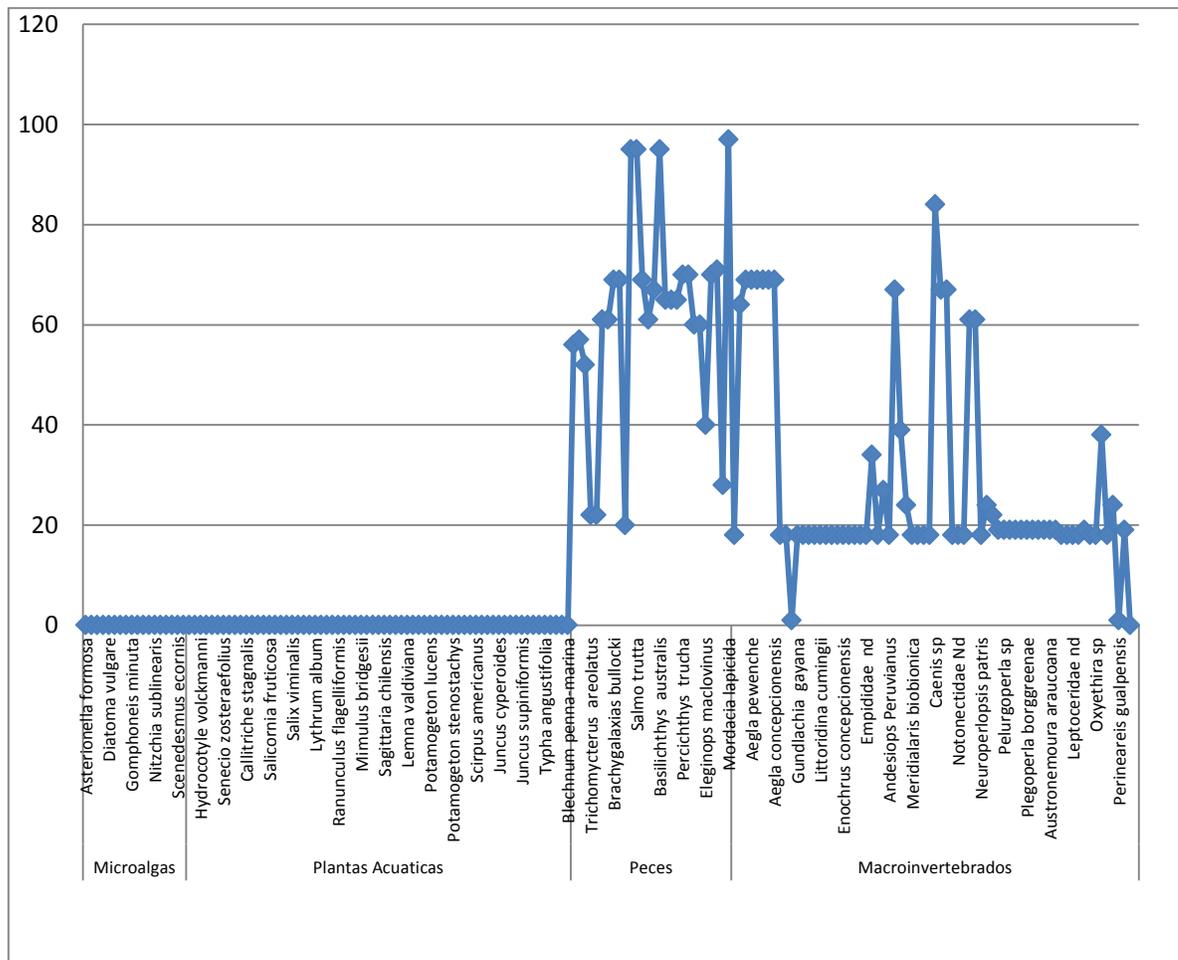
En base a una recopilación de información publicada y su posterior análisis, se logró efectuar un registro de las especies reportadas para la zona de estudio y, unido a criterio experto, establecer las relaciones tróficas esperadas de la cuenca del Río Biobío.

Las especies se agruparon según su rol trófico en donde encontramos 97 especies que depredan (peces y macroinvertebrados) sobre 18 especies de microalgas, 67 especies de plantas acuáticas, 28 especies de peces y 69 especies de macroinvertebrados (Tabla 8).

**Tabla N° 8 Número de especies presas de la cuenca del Río Biobío.**

<b>Grupo</b>	<b>N° de especies</b>
Microalgas	18
Plantas Acuáticas	67
Peces	28
Macroinvertebrados	69

En la Figura N° 6 se puede observar la variación del número de presas para cada especie presente en donde el promedio es de 38 presas posibles en el río, y la especie *M. lapicida* sería la que presenta la más alta trofía con 97 especies probables presas.



**Figura 6. Variación en número de presas para las especies presentes en la cuenca del Río Biobío**

La Cuenca del Río Biobío registró un total de 10 familias de macroalgas y 33 familias de plantas acuáticas como presa de macroinvertebrados bentónicos y de peces. En la red trófica (Figura N° 7) se puede visualizar la agrupación de los productores primarios (en color verde) y la relación que existe entre los consumidores primarios como los macroinvertebrados de la familia Caenidae y de la familia Planorbidae y Sphaeriidae, entre otros. En el centro del esquema se agrupan los consumidores secundarios y consumidores terciarios, mostrando una estrecha relación entre estos grupos.



se generó la selección definitiva de las especies de importancia ecológica posibles de ser utilizados como organismos de bioensayos y bioindicadores, el listado de los asistentes se muestran en la Tabla 9. Esta jornada de análisis se desarrolló el día viernes 19 de julio de 2013, en dependencia de la Secretaría Regional Ministerial de Medio Ambiente, región del Biobío ubicada en calle Rengo N°81 ciudad de Concepción.

**Tabla N° 9 Profesionales que integraron el panel de expertos.**

Grupo taxonómico	Experto	Correo electrónico	Teléfonos
Peces	Víctor Hugo Ruíz	<a href="mailto:vruiz@udec.cl">vruiz@udec.cl</a>	41-2204709
Bentos	Ricardo Figueroa	<a href="mailto:rfiguero@udec.cl">rfiguero@udec.cl</a>	41-2204045
Ecotoxicología	Ricardo Barra Ríos	<a href="mailto:ricbarra@udec.cl">ricbarra@udec.cl</a>	41-2204013
	Enrique Bay-Schmith	<a href="mailto:ebayschm@udec.cl">ebayschm@udec.cl</a>	41- 220 44805

Cabe destacar que en esta jornada de trabajo también participaron integrantes del Ministerio del medio Ambiente, nivel central y nivel regional, además del director del presente proyecto y un investigador del mismo (Tabla N°10).

**Tabla N° 10 Asistentes panel de expertos.**

Nombre	Institución
Amerindia Jaramillo	MMA-Central
Hernán Latuz	MMA-Central
Jorge León	MMA-Central
Cristian Cornejo	SEREMI MMA
Carla Mulato	SEREMI MMA
Marcela Guerrero	UCT
Francisco Encina	UCT

Del trabajo realizado por el panel de expertos se concluyeron las especies que se detallan en la Tabla N° 11 para realizar los bioensayos. En esta oportunidad se discutió la factibilidad de que los organismos provengan directamente del área de estudio, lo que conlleva, que en la etapa de terreno sean definidas finalmente las especies que presenten un número representativo de ejemplares para los ensayos y que su estado de conservación permita la captura de estos.

**Tabla N° 11. Especies preseleccionadas para bioensayos.**

PHYLUM	CLASE/ ORDEN	FAMILIA	ESPECIES
Artrópoda	Ostrácodo		
	Insecta / Ephemeroptera	<i>Beatidae</i>	
	Cladocera		<i>Daphnia sp.</i>
	Melacostraca / Decapodos	Parastacidae	<i>Aegla sp</i>
Chordata	Actinopterygii/ siluriforme	Trichomycteridae	<i>Trichomycterus sp.</i>
Molluscos	Bivalvia / Veneroida	Sphaeriidae	<i>Pisidium sp.</i>
	Gastropodos	Chiliniidae	<i>Chilinas sp</i>
Macrófita		Lemnaceae	

Finalmente sobre la base de las especies preseleccionadas y considerando las abundancias y disponibilidad de material, las especies seleccionadas para la realización de ensayos fueron los siguientes: *Selenastrum capricornutum*, *Daphnia pulex*, *Galaxias maculatus*, *Ephemeropteros* y *Lemna valdiviana*.

Los ensayos deben considerar la disponibilidad de material, que correspondan a los tres niveles tróficos y que estas sean posibles de cultivar o mantener en el laboratorio, en este sentido, se seleccionó *G. maculatus* por su abundancia, facilidad de captura y mantención en el laboratorio. Respecto a Aeglas y Chilinas, estas no fueron incorporadas, ya que se cuenta con un carnívoro y herbívoros y en la propuesta se consideraron 5 especies.

Respecto a la captura de peces y bentos, de las actividades de terreno realizadas se debe considerar que durante el periodo de muestreo se presentaron altos caudales y existieron eventos importantes de pluviometría que dificultaron el proceso de muestreo obteniendo números insuficientes de ejemplares. Esto trajo consigo que dada la programación de las actividades de los bioensayos se cambiaran las especies estratégicamente y así poder cumplir con los plazos establecidos según la coordinación con el MMA.

El número necesario para todos los ensayos se detallan a continuación:

**Tabla N° 12. Número de individuos por ensayos.**

Grupo	Especie	N° Replicas	N° Concentraciones	Control	N° Individuos	Tratamientos
Microalgas	<i>Selenastrum capricornutum</i>	4	5	1		5
Cladóceros	<i>Daphnia obtusa</i>	10	5	1	1	5
Peces	<i>Galaxias maculatus</i>	3	5	1	5	5
Macroinvertebrados	<i>Ephemeropteros</i>	4	5	1	5	5
Macrófitas	<i>Lemna valdiviana</i>	4	5	1	10 colonias	5

**Componente 4. Considerando especies locales representativas de los diferentes niveles tróficos existentes en la cuenca del río Biobío, determinar niveles de sensibilidad crónica utilizando xenobióticos específicos.**

Las especies a ensayar son: *Selenastrum capricornutum*, *Daphnia pulex*, *Galaxias maculatus*, *Ephemeropteros* y *Lemna valdiviana*, respecto a los xenobióticos a ensayar: son Hierro, Aluminio, Cromo, Cloruros, Oxígeno Disuelto.

## METODOLOGIA BIOENSAYOS CON ESPECIES NATIVAS

A continuación se presentan las metodologías seleccionadas para las especies y compuestos establecidos para este proyecto.

### Muestreo y Transporte de Invertebrados Bentónicos Nativos

Las especies de invertebrados bentónicos nativos fueron colectadas mediante un Surber de 30x30 centímetros. Las muestras de fauna fueron minuciosamente separadas del material orgánico e inorgánico, esta operación se realizó in situ, fueron identificados hasta el nivel taxonómico de familia mediante claves y descripciones de Peters y Edmunds (1972), McCafferty (1983), Arenas (1993, 1995) y Fernández y Domínguez (2001).

Los individuos para los bioensayos fueron seleccionados utilizando unas bandejas de 60x30x15 centímetros donde se dispuso el material colectado, posteriormente los individuos fueron recogidos mediante gotarios y dispuestos en el sistema de transporte especialmente

diseñado para este tipo de comunidad. Este sistema consiste en la utilización de envases de 10 litros que en su interior se dispuso un sustrato artificial para que los individuos transportados se adhieran y se distribuyan de forma uniforme en los envases de traslado. Adicionalmente (los envases de traslado) fueron implementados de un sistema de aireación mecánica en un cooler con icepack de manera de asegurar y conservar la temperatura de recolección (entre 11 y 14°C) (Figura 8).



**Figura 8. Sistema de recolección de individuos (red surber) y Sistema de selección y transporte de individuos**

### **Muestreo y Transporte de Peces Nativos**

Los peces fueron colectados en las orillas del lago, con la utilización de red de corral.

Red de corral: La red utilizada presenta una longitud de relinga de 25 m. y una altura de 1,5 m., un tamaño de apertura de malla de 3 mm y un cono con un largo de 1,5m y un diámetro de 1,5 m., ubicado en la mitad de la longitud total de la red. En la parte superior lleva flotadores y en la parte inferior lastre de plomos. El procedimiento se realiza por tres personas uno de los cuales se toma un extremo de la red y realiza el cerco correspondiente, ayudado por una embarcación a motor en los sectores donde el río presentaba una profundidad superior a los 1,5 m. o simplemente caminando en los sectores más bajos; la otra persona puesta en el extremo opuesto alinea la red, de tal manera que una vez que el cerco es completado, se comienza a recoger la red desde la orilla por ambas puntas, evitando la fuga de peces por encima o por debajo de la misma, de esta manera los peces

comienzan a agruparse en el centro de la malla donde finalmente ingresan al cono, donde posteriormente son recogidos.

Los especímenes fueron depositados en estanques de 60 L, asegurando una densidad de carga no mayor a los 10 kg/m<sup>3</sup> todos los estanques fueron acondicionados con aireación mecánica para mantener los niveles de oxígeno disuelto en forma óptima no menor a los 6 mg/l posteriormente estos son trasladados al Laboratorio para su acondicionamiento de 24 horas previo al bioensayo, esto implica el retiro de todo los sólidos sedimentables colectado producto de la captura, de manera de mantenerlos en agua limpia por lo menos 24 horas antes de aplicación del bioensayo, se deben mantener con aeración controlada de tal forma de no ocasionar un sobre stress en los peces y asegurar al menos un 85% de saturación de oxígeno.

### **Mantenimiento de los cultivos cladóceros**

En laboratorios de la Universidad Católica de Temuco, se cuenta con cultivos permanentes de especies estandarizadas (*Daphnia pulex*, *Daphnia obtusa*) y especies nativas, Durante los dos primeros meses del estudio, se realizaron colectas de zooplancton en zonas no afectadas directamente por descargas industriales, mediante arrastres verticales de profundidad con una red de zooplancton (diámetro: 20-40 cm, malla 50 µm). En el laboratorio, las muestras se lavarán tres veces con agua previamente filtrada en un filtro Nuclepore 0.2 µm a fin de eliminar bacterias y microalgas. Todos los cultivos se iniciarán con un organismo, con el objetivo de trabajar con cepas puras y evitar la variabilidad genética, de una generación a otra, dentro de la misma población. Los organismos zooplanctónicas se mantendrán en frascos de 800 ml en condiciones de temperatura de 20° C, fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad constante y aireación dada por difusores con saturación de oxígeno. Los organismos serán cultivados en agua reconstituida de acuerdo con los protocolos de NCh2083 (1999). Como alimento, se usará un producto especial fabricado de una mezcla de harina de pescado, alfalfa y levadura o raciones de monocultivos de microalgas verdes.

### **Mantenimiento de los cultivos de *Lemna valdiviana***

Se colectaron plantas desde aguas apozadas en las rivera del Biobío y Rio Valdivia que fueron transportadas en botellas junto con agua del mismo sector al laboratorio de

Bioensayos y Limnología Aplicada de la Universidad Austral de Chile (Valdivia). En el laboratorio se seleccionaron a pulso las colonias de mejor aspecto visual para ser inoculadas con la misma agua traída esperando su aclimatación en una cámara de cultivo JSPC-300C. Luego de una semana se modificó el medio por una preparación salina (preparación de Steinberg modificado por Altenburger, según DIN EN ISO20079 (2006), el cual les provee nutrientes necesarios para su crecimiento óptimo en condiciones controladas. El medio nutritivo de Steinberg fue recambiado 3 veces por semana para evitar efectos alelopáticos que pueden provocar la aparición de microalgas (Van Vierssen and Prins 1985; Kemp *et. al.*, 1988), eutrofización y/o ataque bacteriano. Se busca lograr que los individuos alcancen un crecimiento sostenido en el tiempo libre de factores estresores y contaminantes para ser utilizados en los bioensayos.

## BIOENSAYOS CRÓNICOS

### Realización de bioensayos de toxicidad

Los bioensayos son una herramienta que nos permite cuantificar y obtener el nivel de toxicidad de una muestra, midiendo el efecto de uno o más contaminantes sobre las especies a evaluar y consiste en la exposición de los organismos a concentraciones crecientes de un agente tóxico, determinando sus cambios en un período de tiempo específico. Los organismos seleccionados, es decir, especies o familias nativas de diferentes niveles tróficos del ecosistema en estudio, serán expuestos a distintas concentraciones de 5 metales previamente establecidos como son: Aluminio (Al), Hierro (Fe) Cromo (Cr), Cloruros y la medición de Oxígeno disuelto (OD). Así, después de la realización de ensayos preliminares, los organismos (Tabla N°13) fueron sometidos a pruebas de toxicidad crónica.

**Tabla N° 13 Taxas empleados en la realización de bioensayos de toxicidad**

Grupo	Especie seleccionada
Microalgas	<i>Selenastrum capricornutum</i>
Cladóceros	<i>Daphnia obtusa</i>
Peces	<i>Galaxias maculatus</i>
Macroinvertebrados	<i>Ephemeropteros</i>
Macrófitas	<i>Lemna valdiviana</i>

## Reactivos

Todos los reactivos deben tener calidad analítica o al menos un 99% de pureza. Para la preparación de soluciones se utiliza agua destilada o desionizada (*Millipore Super Q*). Los compuestos tóxicos se suministran en los experimentos por medio de soluciones patrón, que se elaboran con reactivos grado analítico (99% de pureza) y agua desionizada, siguiendo las recomendaciones de APHA (1994) y FAO (1982, 1986.)

## Tratamientos estadísticos de los datos

El análisis de la información generada de cada bioensayo, es procesado considerando el diagrama de flujo recomendada por la USEPA y además las características del bioensayo (agudo o crónico).

## Bioensayos crónicos

Permiten la exposición de los organismos durante todo o parte de su ciclo de vida a los contaminantes ambientales y tienen como objetivo estimar la mayor concentración no efectiva (NOEC) o segura de agentes tóxicos ensayados. Estos niveles son utilizados para establecer los límites de tolerancia para la presencia de tóxicos

En las pruebas crónicas, la estimación de valores de NOEC, fueron calculados estableciendo la variabilidad existente de los datos control con sus respectivas réplicas, medida de acuerdo a diferentes criterios, como por ejemplo, reproducción, sobrevivencia o crecimiento, consumo de oxígeno, según el objetivo de la prueba existente.

## TEST CRÓNICO CON MICROALGAS

La microalga *Selenastrum capricornutum*, está expuesta en un sistema estático a una serie de concentraciones, durante 72- 96 h. La respuesta de la población se midió en términos de cambios en la densidad de células (recuento de células por ml), la biomasa, el contenido de clorofila o absorbancia.

### Procedimiento general del test

Para cada bioensayo se utilizaron cuatro réplicas, donde para cada una hubo 5 diferentes concentraciones más un control. Por lo tanto, cada test implica el uso de 24 matraces de vidrio. El agua de dilución utilizada para las pruebas corresponde al medio de cultivo de las algas, cuyo pH es de 7.5. El stock de microalgas con el que se comienza a trabajar corresponde a 500000 Cel/ml, donde al agregar 0.6 ml de éstas a cada una de las réplicas ensayadas se obtuvo una concentración inicial para la prueba de 10000 cel/ml ( Figura 9.).



Figura 9. Ensayo crónico *Selenastrum capricornutum*

### Condiciones ambientales

Los matraces del ensayo se incuban bajo iluminación continua a  $86 \pm 8,6 \mu\text{E} / \text{m}^2 / \text{S}$  ( $400 \pm 40 \text{ ft-c}$ ), a  $25 \pm 1\text{EC}$ , y se debe agitar continuamente a 100 cpm en un agitador mecánico o dos veces al día con la mano. En el caso de incubadoras los matraces deben ser girado al azar todos los días para reducir al mínimo posible las diferencias espaciales en la iluminación y la temperatura sobre la tasa de crecimiento.

### Diseño del test

Conocido el número de células presentes en el inóculo mediante la cámara de Neubauer, se debe hacer una dilución con el fin de obtener en cada vial de prueba una concentración inicial de 10.000 cél/ml. La preparación del inóculo que fue utilizado en las pruebas debe provenir de un cultivo en fase exponencial. La densidad del cultivo fue determinada con ayuda de una celda de conteo o cámara de Neubauer.

**Tabla N° 14. Condiciones generales para la realización del test con microalgas**

Parámetros	Criterio
TIPO DEL TEST	Estática no renovación
DURACION DEL TEST	72-96hrs
TEMPERATURA	25 ± 1EC (recomendado) T° de ensayo no debe desviarse (es decir, no por más de 3 ° C durante la prueba (requerido)
FOTOPERIODO	Iluminación continua (requerido)
CALIDAD DE LA LUZ	"Blanco frío" de luz fluorescente (recomendado)
INTENSIDAD DE LA LUZ	86 ± 8,6 µE / m <sup>2</sup> 2/s (400 ± 40 ft-c or 4306 lux)/ S (400 ± 40 ft-co 4.306 lux)(Recomendado)
Nº DE REPLICAS / CONCENTRACION	Mínimo 4
Nº DE CELUAS	10x4 cel/ml
AIREACION	ninguna
AGUA CONTROL Y DILUCION	medio de cultivo de algas, enriquecido
EXPRESION RESULTADOS	NOEC Y LOEC

Las concentraciones a ensayar para los diferentes xenobioticos en estudio se presentan en la tabla 15.

**Tabla N° 15. Concentraciones ensayos microalgas expresadas en mg/l**

Sustancia	Metal	Concentraciones
Sulfato de aluminio (Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> )	Al	0,3-0,6-0,9-1,2-1,5
Cloruro de hierro (FeCl <sub>3</sub> )	Fe	0,15-0,20-0,25-0,30-0,35
Cloruro de sodio (NaCl)	Cl-	0,5-0,8-1,3-1,8-2,3
Cromo (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	Cr	0,2-0,5-0,7-1,2-1,7

### Registro de los datos

Al finalizar el tiempo de duración de los bioensayos se procedió a verificar el efecto de las diferentes concentraciones sobre los organismos, obteniendo la densidad de células

existente para cada concentración, mediante la densidad óptica de la suspensión celular en vivo, medida a las longitudes de onda de máxima absorción 665 nm y/o 750 nm en un espectrofotómetro, lo cual requiere del uso de celdas de 5cm o 10 cm de paso de luz.

### **Expresión de los resultados**

Para los resultados de las pruebas para ser aceptable, la densidad media de células de algas en los frascos de control debe exceder de  $1 \times 10^6$  células / ml al final de la prueba, y el coeficiente de variación (CV, calculado como la desviación estándar X 100 / media) para la densidad de células de algas entre el control de réplica no debe exceder del 20%. Se determina mediante un procedimiento estadístico los valores de NOEC y LOEC utilizando el software estadístico DEBtox.

## **TEST CRÓNICOS CON CLADÓCEROS**

### **Mantenimiento de los cultivos**

En el caso de los cultivos de *Cladóceros* éstos pueden mantenerse a volúmenes variables, sin embargo los individuos, se recomienda estén a una densidad poblacional no mayor de 12 individuos por litro.

Los Cladóceros se mantuvieron en agua reconstituida con una dureza entre 160 y 180 mg CaCO<sub>3</sub>/L. El agua se preparó en el laboratorio (APHA, 1998) y puede suplementarse con una solución de vitaminas y selenio, cuando se detecten problemas en la reproducción, o se presente una alta mortalidad entre los 14 y 21 días por malformación de las antenas.

Los cultivos se mantuvieron a dos temperatura de, 14 °C +/- 1 °C y a 25 °C +/- 1 °C el fotoperiodo aproximado de 16 h luz/8 h oscuridad y una intensidad lumínica de alrededor de 800 lux. Como medio de cultivo en una primera etapa se empleó el agua filtrada traída desde terreno, para luego de una semana ser reemplazada por agua reconstituida según (APHA 1998).

Para su preparación se recomienda colocar en una botella de 30 litros: 19 L de agua deionizada o destilada y adicionar 2,4 g de MgSO<sub>4</sub>, 3,84 g de NaHCO<sub>3</sub> y 0,16 g de KCl. Agitar hasta disolver completamente las sales. Paralelamente, disolver 2,4 g de CaSO<sub>4</sub>•2H<sub>2</sub>O en 1L de agua deionizada o destilada. Terminada la solubilización de la sal,

incorporar la solución de  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , a la botella, lo cual permitirá obtener veinte litros de agua dura reconstituida.

Las soluciones preparadas se deben mantener refrigeradas ( $4 \pm 2$  °C) y pueden almacenarse por un periodo de hasta seis meses. Para un volumen de veinte litros de agua dura reconstituida, se adicionaron los siguientes volúmenes de cada una de las soluciones: tiamina (20 mL), vitamina B12 (4 mL), biotina (2 mL) y selenito de sodio (4 mL).

### **Test crónico con cladóceros**

Fue propuesto inicialmente por Mount & Norberg (1984) como un ensayo crónico de bajo costo, posteriormente fue adoptado por la USEPA y la ASTM (1989) siendo en la actualidad uno de los test crónicos con invertebrados de agua dulce más usados en USA.

### **Procedimiento general del test**

Los test de reproducción consisten por lo general en uno o más controles y una serie geométrica de por lo menos 5 concentraciones del material de prueba.

### **Preparación del material de vidrio**

Una buena rutina de limpieza de cámaras y el material de vidrio utilizado en el bioensayo es indispensable para la obtención de resultados confiables. Previo al bioensayo, deben lavarse prolijamente las cámaras de prueba, para lo cual son de jadas por 24 hrs en  $\text{HNO}_3$  y posteriormente enjuagadas 6 veces con una corriente y dejadas por 24 hrs más en agua destilada. Antes de la realización del test deben enjuagarse con agua de dilución. Al término de la prueba, se repite el procedimiento anterior.

### **Materiales a utilizar**

Cámaras de prueba; pocillos de 4ml

Micropipetas de diferentes volúmenes

Stock de microalgas

### **Condiciones ambientales del test**

- Luz fotoperiodo y temperatura

La calidad e intensidad de la luz deben estar en los niveles de un laboratorio aprox 10-20  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ , con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad. La temperatura es crítica y debe ser mantenida a  $25 \pm 1$  °C.

- **Oxígeno disuelto**

Si la concentración de oxígeno del efluente o agua de dilución es bajo, debe airearse lo suficiente antes de la preparación de las distintas concentraciones. Durante el test no debe haber aireación.

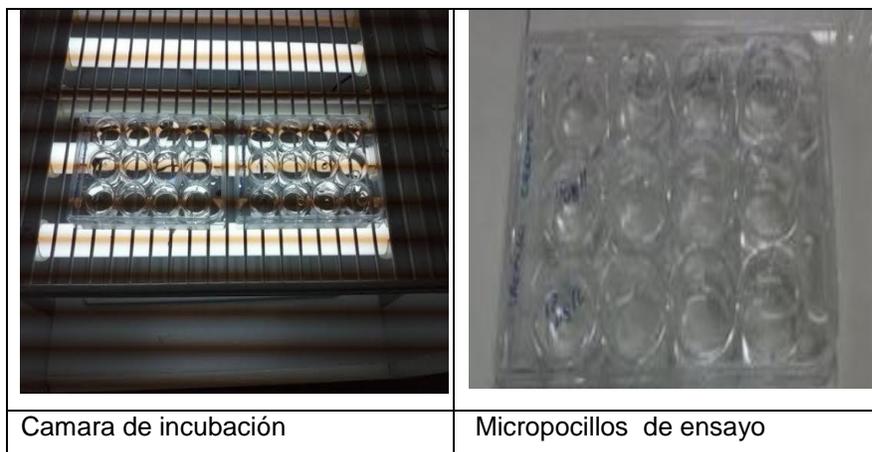
- **Alimentación**

Los organismos deben alimentarse una vez iniciado el test y durante el recambio de medio. El alimento debe añadirse al medio fresco antes de que los adultos sean transferidos. Cada ración consiste en 0,1 ml de concentrado de *Selenastrum sp*  $3,0 \times 10^6$  cel/ml

### **Diseño del test**

Se colocan en una serie de envases o cámaras de prueba, volúmenes crecientes de la solución prueba o efluente y se agrega agua de dilución hasta obtener las concentraciones o diluciones deseadas para la prueba.

Se utilizan micropocillos (cámaras de cultivo) de 4 ml de volumen, la batería del ensayo consiste en 5 concentraciones más un control (Figura 10). Las cámaras deben taparse para evitar la evaporación de las soluciones y la entrada de partículas extrañas al interior de estas. Se agrega una cantidad predeterminada de alimento, es decir, concentración de microalgas, la cual es previamente calculada en base a la literatura.



**Figura 10. Ensayo crónico con cladóceros**

Se colectan y seleccionan neonatos de menos de 24 hrs de nacidos, tal como se hace para los test agudos de *Daphnia sp.* Este test está diseñado para realizarse en una semana normal de trabajo de 5 días. Usualmente el test comienza colocando 1 neonato por cámara. Se necesitan 60 neonatos considerando un control y 5 concentraciones, con 10 réplicas por tratamiento. Al día 3 se debe realizar un recambio de medio preparando nuevamente las concentraciones en conjunto con el stock de microalgas que sirve de alimento, este recambio se debe realizar cada dos días. Trascurrido los días se obtiene un adulto que generara huevos los cuales eclosionaran y deben ser trasladados a otra cámara de cultivo, contabilizando el número de juveniles nacidos y así sucesivamente hasta completar los 14 días aproximadamente. Se termina el test, después de contar el número de juveniles producidos, el número de sobrevivientes, número de mudas, número de huevos, número de embriones, entre otros.

### **Registro de datos**

Al final de periodo de observación se deben analizar los resultados obtenidos para ver las diferencias significativas entre el número de neonatos producidos en las diferentes concentraciones. Si el número de juveniles producidos en la concentración más baja difiere significativamente del control se debe repetir el test reduciendo aún más las concentraciones del toxico, hasta que, al menor la concentración menor, no hayan diferencias significativas con respecto al control. Además del registro de mudas generadas en cada concentración.

**Tabla N° 16. Condiciones generales para la realización del test con cladóceros**

Parámetros	critério
TIPO DEL TEST	estático , con recambio cada 2 días
DURACION DEL TEST	7-14 días
TEMPERATURA	25°C
FOTOPERIODO	16 h luz / 8h oscuridad
VOLUMEN DE LAS CAMARAS	4 ml
EDAD ORGANISMOS	neonatos < 24 hrs
Nº DE REPLICAS / CONCENTRACION	6-10
RECAMBIO DE MEDIO	cada 48hrs
Nº ORGANISMOS / CAMARA	1
ALIMENTACION	Stock de Selenastrum
AIREACION	ninguna
AGUA CONTROL Y DILUCION	Medio cladóceros
CRITERIO ACEPTABILIDAD	<10% mortalidad adultos parentales
EXPRESION RESULTADOS	NOEC Y LOEC

Las concentraciones a ensayar para cada xenobiótico se detallan en la tabla 17.

**Tabla N° 17. Concentraciones ensayos cladóceros expresadas en mg/L**

Sustancia	Metal	Concentraciones
Sulfato de aluminio ( $Al_2(SO_4)_3$ )	Al	0,1-0,3-0,5-0,8-1,1
Cloruro de hierro ( $FeCl_3$ )	Fe	0,5- 1,3- 2,3- 3,3- 4,5
Cloruro de sodio (NaCl)	Cl-	0,015-0,030-0,050-0,080-0,110
Cromo ( $K_2Cr_2O_7$ )	Cr	0,10-0,012-0,015-0,018-0,020

## TEST CRÓNICO CON MACROINVERTEBRADOS BENTÓNICOS.

### Test de respiración

Se utilizó el consumo de oxígeno como parámetro indicador del metabolismo en los organismos sometidos a diferentes tóxicos a modo de obtener el valor de NOEC.

### Materiales a utilizar

- Frascos shott. de 100 ml.
- Mangueras, bombas de aireación, difusores
- Bandejas plásticas.
- Equipo de medición de oxígeno.

- Equipo de enfriamiento

## Condiciones ambientales del test

### Temperatura

Los organismos se deben mantener en un sistema de enfriamiento constante de aprox 10°, durante el tiempo de experimentación.

### Oxígeno

La batería del bioensayo debe contar con un aireación constante y solo en el momento de la lectura del consumo de oxígeno se debe prescindir de esta.

### Diseño del bioensayo

Al inicio del test los organismos deben ser previamente pesados, a modo de estandarizar el peso. El bioensayo consiste en cuatro réplicas, considerando un total de 5 concentraciones más un control por cada metal seleccionado, como medio se utilizó agua filtrada de dilución sin presencia de tóxico. Cada test implica el uso de 18 envases (frascos shott) los cuales se les agrega el agua filtrada como medio de control con las correspondientes 5 concentraciones (Figura 11).

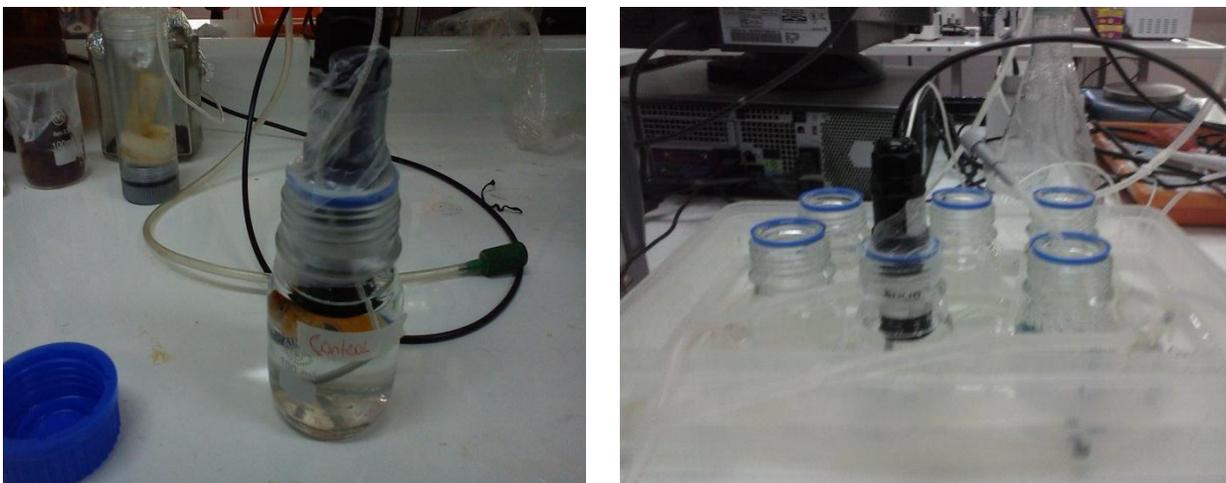


Figura 11. Ensayo crónico en Ephmeropteros

Tanto el control como las diferentes concentraciones utilizadas por cada metal contienen 5 individuos, adicionalmente se les proporciona un sistema de aireación mecánica hasta obtener la saturación para luego proceder a la lectura de consumo de oxígeno (O<sub>2</sub>). La medida se realiza a través del equipo Toxstat provisto con dos electrodos uno para O<sub>2</sub> disuelto y otro T<sup>o</sup>. La lectura se realiza al inicio de la prueba por un tiempo de 60min a cada frasco, al momento de la lectura los frascos se mantienen cerrado con parafilm y encintados en todas las uniones para asegurar el hermetismo. La tabla 18 entrega el resumen de las condiciones generales para la realización.

**Tabla N° 18. Condiciones generales para la realización del test con macroinvertebrados bentónicos.**

Tipo de ensayo	Estático
Tiempo de exposición	48 horas
Temperatura	10 ±2° C
Volumen de las recipientes	100 mL
Número de concentraciones	5 más un control
Número de réplicas por concentración	4
Tipo de agua del control y de dilución	Agua de lago
Alimentación	Ninguna
Aireación	Si, antes de la lectura de consumo de oxígeno
Número de individuos por ensayo	5
Respuesta	Consumo de oxígeno
Tiempo de medición	30 minutos
Criterio de aceptabilidad	Hasta 10% de mortalidad en el control
Expresión de los resultados	NOEC, LOEC

Las concentraciones a evaluar se presentan en la siguiente tabla

**Tabla N° 19. Concentraciones ensayos macroinvertebrados bentónicos expresadas en mg/l**

Sustancia	Metal	Concentraciones
Sulfato de aluminio (Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> )	Al	0,5-0,8-1,3-1,8-2,0
Cloruro de hierro (FeCl <sub>3</sub> )	Fe	0,5-1,0-1,5-2,0-2,8
Cloruro de sodio (NaCl)	Cl-	0,3-0,5-1,0-1,5-2,0
Cromo (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	Cr	0,2-0,5-0,9-1,4-2,0

### **Registro de los datos.**

Se registran las lecturas de consumo de oxígeno inicial hasta que en los organismos se evidencia la falta de oxígeno o hipoxia, para luego obtener la diferencia de consumo de oxígeno disuelto por cada concentración evaluada y posteriormente se calcula el valor de NOEC.

## **TEST CRONICO CON PECES**

### **Mantenimiento de los cultivos**

Se utilizaron individuos del puye *Galaxias maculatus*, procedentes de la Piscicultura de la Universidad Católica de Temuco. Los peces se mantuvieron en acuarios de vidrio de 30x40x120 cm, con un flujo de agua de pozo, proporcionado por una bomba. Los individuos se conservarán en estanques con 200 individuos como máximo en cada uno de ellos. Los peces fueron alimentados dos veces al día con pellets y se controlará la temperatura a las 8:00 y 18:00 hrs. Los individuos a ser utilizados en los ensayos fueron ambientados por 7 días previos a los bioensayos.

### **Procedimiento test**

Esta prueba se basa en la tasa de consumo de oxígeno de los peces considerando que se ve afectada en mayor o menor medida por la concentración de oxígeno existente en el agua. Consiste en exponer a los peces a compuestos tóxicos y medir la actividad de consumo de oxígeno durante 30min aprox. Es necesario estandarizar el peso y tamaño de los individuos.

### **Organismo de ensayo**

Es indispensable que los peces que se encuentran en el proceso de aclimatación se mantengan en las mismas condiciones ambientales (temperatura, calidad de agua, flujo de aire, etc.) durante el período de experimentación.

Para iniciar las pruebas de toxicidad, los organismos deben ser seleccionados de acuerdo a su talla (3 a 5 cm de longitud total)

### Materiales a utilizar

- Acuarios de vidrio para los bioensayos.
- Cristalería: vasos de precipitados, matraces Erlenmeyer, probetas, etc. Espátulas.
- Accesorios de acuario: mangueras, piedras de aireación, redes de mano, etc.
- Alimento para peces
- Pipetas automáticas de diferentes volúmenes (5µL -50µL, 50µL-100µL, 100µL-1000µL).
- 

### Desarrollo de la prueba

El protocolo para la medición del consumo de O<sub>2</sub> fue ajustado a partir del reportado previamente por Sastre consistió fundamentalmente en los siguientes pasos: 1) llenado del envase de prueba con agua filtrada, 2) aumento de la concentración de O<sub>2</sub> hasta el nivel de saturación burbujeando O<sub>2</sub> comprimido a través de un difusor, 3) ubicación de los peces dentro de la cámara, 4) mantener la concentración de O<sub>2</sub> por encima del 90% del nivel de saturación, mediante aireación permanente o burbujeando intermitentemente O<sub>2</sub> comprimido, 5) cerrar la cámara herméticamente y registrar la concentración de O<sub>2</sub> consumido por 30 min.

Tanto en los controles como en los tratamientos se utilizan acuarios de vidrio con un volumen total de agua 1 L. En cada acuario se colocan 5 crías de peces de entre 3 y 5 cm de longitud total (Figura 12).



Figura 12. Ensayo crónico con *Galaxias maculatus*

Para la prueba se deben utilizar al menos cinco concentraciones con 3 réplicas cada uno más un control, que corresponde al agua libre de toxico. En cada cámara experimental y para cada concentración se exponen aproximadamente 5 organismos. Los peces se eligen de los sistemas de mantenimiento y se colocan al azar en los acuarios experimentales de exposición.

Previo a la adición de los compuestos en estudio, los organismos se mantienen un mínimo de 24 horas en aclimatación en los acuarios de exposición, sin proporcionar alimento. La adición de la solución de prueba debe efectuarse de manera muy lenta, con una agitación suave para evitar una posible exposición de los organismos a la elevada concentración de la solución madre, garantizando la completa mezcla del compuesto toxico en el medio y cuidando de no estresar a los organismos expuestos.

El agua utilizada tanto para el mantenimiento de los organismos como para los bioensayos de toxicidad debe ser previamente filtrada.

Los peces no deben ser alimentados durante el proceso de experimentación. La alimentación de los animales se debe suspender 24 horas antes iniciar las pruebas y durante el desarrollo de las mismas (96 horas), con el fin de evitar interferencia por los procesos digestivos

La prueba de consumo de oxigeno tiene una duración de 30 min aproximadamente hasta que los peces presenten condiciones de falta de oxígeno total anotando los cambios fisiológicos y de comportamiento que sean visibles, como: falta de movimiento, pigmentación, pérdida de equilibrio, boqueo.

**Tabla N° 20. Condiciones generales para la realización del test con peces.**

<b>Tipo de ensayo</b>	<b>Estático</b>
Agua de dilución	Agua de clorada y filtrada
Temperatura	8-15°C
Ph	7
Aireación	Asegurar OD>5ppm
Duración test	30 min
Talla promedio de organismos	5cm
Peso promedio de organismos	2 grs
alimentación	ninguna
Número de individuos por ensayo	5
Numero de concentraciones	5 más un control
Numero de replicas	4

Expresión resultados	NOEC
Valides del test	Mortalidad del control >10%
Variable de respuesta	Consumo de oxígeno

Las concentraciones a evaluar para cada xenobioticos se presentan en la tabla a continuación:

**Tabla N° 21. Concentraciones ensayos *Galaxias maculatus* expresadas en mg/L**

Sustancia	Metal	Concentraciones evaluadas
Aluminio $Al_2(SO_4)_3$	Al	0,3-0,5-0,9-1,3-1,8
Hierro ( $FeCl_3$ )	Fe	0,2-0,4-0,6-0,8-1,0
Cromo( $K_2Cr_2O_7$ )	Cr	0,2-0,3-0,4-0,5-0,7
Cloruro de sodio (NaCl)	Cl-	1,5-3,5-6,5-10-1,5

### Expresión de los resultados

Se utilizan los datos obtenidos de la cantidad de oxígeno consumido en el tiempo para luego obtener mediante procedimientos estadísticos el cálculo de las NOEC de cada período de exposición.

### Validación del método

Para que el experimento sea validado, la mortalidad de los peces control no debe exceder el 10%, en caso de que este porcentaje de mortalidad sea mayor, se debe suspender el experimento.

## TEST CRONICO CON MACROFITAS

### Cultivo y mantención de los macrófitas

Se realizaron ensayos con macrófitas acuáticas enraizadas y flotantes. Los organismos más frecuentemente utilizados para tal fin, corresponden a las especies *Vallisneria americana*, *Ceratophyllum demersum*, *Myriophyllum spicatum*, *Hydrilla verticillata* y *Eichhornia sp.*,

*Ludwigia peploides* y *Egeria densa*. Se seguirán los protocolos presentados en Lovett Doust et al. (1994a; 1994b); Biernacki et al. 1995; 1996; 1997). Los bioensayos consistirán en el cultivo de la especie seleccionada en muestras de sedimentos, determinando la biomasa de las plantas al inicio de los experimentos. Se colocarán las plantas en acuarios experimentales con sedimentos y aguas, expuestas por un período de 10 días. Al final del bioensayo, se determinará el crecimiento en peso y longitud y el contenido en clorofila a de acuerdo a lo recomendado por APHA (1992) para ensayos algales (Lewis, 1995).

### Procedimiento Ensayo crónico en *Lenma valdiviana*

#### Preparación del medio de cultivo:

El agua reconstituida se preparó a partir de 5 soluciones salinas mezcladas según protocolo DIN EN ISO/20079 y diluidas en 1 Litro de agua destilada. Esta mezcla nutritiva se utiliza tanto para la mantención de las colonias de plantas como para la exposición al tóxico.

**Tabla N° 22. Soluciones nutritivas para el cultivo de *Lemna valdiviana* según medio de Steinberg (modificado por Altenburger)**

Macronutrientes	mg/l	Micronutrientes	µg/l
KNO <sub>3</sub>	350	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	120
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	295	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	180
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	90	NaMoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	44
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	12,6	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	180
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	100	FeCL <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	760
		EDTA Disodium-	15000

#### Inoculación de los organismos

En cada uno de los vasos se inocularon 20 frondas (10 colonias de *Lemna valdiviana*), las cuales son previamente pesadas (peso húmedo). El criterio de elección de los organismos es que cada colonia tenga 2 frondas de similar tamaño y sin evidentes rasgos de división vegetativa para evitar sesgos que puedan producirse por una mala estimación del crecimiento.

## **Tasa de crecimiento**

Para realizar la estimación del crecimiento de la lenteja de agua se llevó registro fotográfico diario de cada una de las réplicas ensayadas en las distintas concentraciones con el fin de evaluar por conteo el número total de cada replica ensayada así como también el aumento de la superficie foliar total cada 24 horas.

## **Número de frondas (NF)**

El conteo de las frondas se realizó mediante la observación de fotografías que se capturaron día tras día a la misma hora. Se consideró como criterio para la discriminación entre una yema interna y una hoja nueva la línea perimetral de la fronda progenitora.

Utilizando los datos de número de frondas en el comienzo, durante la exposición y al final de ésta, se calcula la curva de crecimiento para cada control y cada concentración.

La tasa de crecimiento (frondas en número de días) se calcula con la siguiente fórmula:

$$\mu = (\ln \chi_{t2} - \ln \chi_{t1}) / t_n \quad (2)$$

Dónde:  $\chi_{t1}$  y  $\chi_{t2}$  representan los parámetros de observación (número de frondas) en el tiempo  $t_n$  de duración del test.

## **Área de las frondas (AF)**

Usando un programa computacional - "image-j"- se evaluó cada una de las fotografías tomadas a lo largo del test para estimar el aumento o disminución de su área. Como resultado se obtuvo información individual de cada replica ensayada en centímetros cuadrados ( $\text{cm}^2$ ) que es comparada con el control.

## **Resultados Ensayos crónicos microalgas.**

Los valores de NOEC obtenidos según la tabla 23 muestran que el metal más sensible corresponde a hierro seguido de cromo mostrando una mayor tolerancia a cloruro y aluminio.

**Tabla N° 23. Valores de NOEC para *Selenastrum capricornutum***

Variable	Sustancia	Metal	NOEC	Exposición
crecimiento	sulfato aluminio Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	Al	0,9	96 horas
crecimiento	cloruro de hierro(FeCl <sub>3</sub> )	Fe	0,35	96horas
crecimiento	cloruro de sodio ( NaCl)	Cl	0,9	96horas
crecimiento	romo (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	Cr	0,5	96horas

### Resultados Ensayos crónicos *Daphnia obtusa*

Las diferentes concentraciones preliminares ensayadas se muestra en la Tabla 24, las cuales posteriormente fueron modificadas y repetidas en más de 2 ocasiones producto de la alta mortalidad de los organismos registrados.

**Tabla N° 24. Concentraciones ensayos preliminares cloruro de sodio expresados en mg/L**

metal	1 <sup>a</sup> Concentraciones evaluadas	2 <sup>a</sup> Concentraciones evaluadas	3 <sup>o</sup> concentraciones evaluadas	4 <sup>o</sup> Concentraciones evaluadas
Cloruro de sodio (NaCl)	0,5-1,0-1,5-2,0-2,5	0,1-0,15-0,2-0,3-0,4	0,015-0,030-0,050-0,080-0,110	0,010-0,012-0,015-0,018-0,020

Los ensayos preliminares realizados con microcrustáceos y cromo se presentan en la siguiente tabla.

**Tabla N° 25. Concentraciones ensayos preliminares expuestas en cromo expresados en mg/L de metal**

metal	1 <sup>a</sup> Concentraciones evaluadas	2 <sup>a</sup> Concentraciones evaluadas	3 <sup>o</sup> Concentraciones evaluadas	4 <sup>o</sup> Concentraciones evaluadas
Cromo (k <sub>2</sub> cr <sub>2</sub> 0 <sub>7</sub> )	0,5-1,0-1,5-2,0-2,5	0,2-0,4-0,6-0,8-1,0	0,010-0,020-0,030-0,040-0,050	0,010-0,012-0,015-0,018-0,020

A pesar de obtener una alta mortalidad aun cuando las concentraciones de metal ya sea cloruro de sodio o cromo fueron establecidas en los mínimos niveles, se registró la presencia de mudas durante la permanencia del bioensayo.

Respecto a los ensayos realizados con cromo, el registro de mudas se presenta en la Tabla 26, evidenciándose que pudiese existir una relación entre el número de mudas y la concentraciones como se presenta en el ensayo anterior donde no existen mudas en las concentraciones finales.

**Tabla N° 26. Número total de mudas bioensayo expuestas a cromo (K2 Cr2 O7).**

Concentraciones Cromo Mg/l	3º concentraciones evaluadas	Concentraciones Cromo Mg/l	4º concentraciones evaluadas
	<b>Nº total de mudas</b>		<b>Nº total de mudas</b>
control	1	control	2
0,010-	1	0,010	2
0,020	0	0,012	1
0,030	2	0,015	0
0,040	0	0,018	1
0,050	0	0,020	1

A continuación se muestran el número de mudas registradas durante la exposición de daphnia obtusa a concentraciones de cloruro de sodio (NaCl) en los diferentes ensayos realizados, donde al comparar con el metal anterior, ya existe un mayor número de mudas. A su vez se aprecia que a la concentración de 0,4 mg/l se obtuvo el mayor número de mudas, situación inversa si se compara con el otro ensayo realizado donde a las mínimas concentraciones se registraron una cantidad inferior.

**Tabla N° 27. Número total de mudas bioensayos expuestas a cloruro de sodio (NaCl)**

Concentraciones Cloruro de sodio Mg/l	3º concentraciones evaluadas	Concentraciones Cloruro de sodio Mg/l	4º concentraciones evaluadas
	<b>Nº total de mudas</b>		<b>Nº total de mudas</b>
control	3	control	1
0,1	3	0,015	1
0,15	3	0,030	3
0,2	4	0,050	1
0,3	1	0,080	1
0,4	6	0,110	0

De la totalidad de los bioensayos efectuados, solo fue posible obtener una respuesta significativa en los ensayos con cloruro de sodio, en donde el NOEC para mortalidad se presenta en la tabla 28.

Finalmente La tabla 28 entrega los valores de NOEC de reproducción obtenidos de los bioensayos de toxicidad crónicas para los compuestos Sulfato de aluminio, y cloruro de hierro Además de los valores obtenidos de NOEC en mortalidad para cloruro de sodio y cromo, donde se aprecia que la sensibilidad de estos organismos a este último metal.

**Tabla N° 28. Valores de NOEC para *Daphnia obtusa*, valores entregados en (mg/L).**

Variable	Sustancia	Metal	NOEC	Unidad	Exposición
reproducción	sulfato aluminio $Al_2(SO_4)_3$	Al	0,95	mg/l	14 días
reproducción	cloruro de hierro( $FeCl_3$ )	Fe	2,5	mg/l	10 días
mortalidad	cloruro de sodio ( NaCl)	Cl-	0,050	mg/l	96horas
mortalidad	cromo ( $K_2Cr_2O_7$ )	Cr	0,014	mg/L	96horas

### Resultados crónicos en Ephemeropteros

De acuerdo a la tabla 29 los valores de NOEC resultantes muestran que estas especies presentan una mayor sensibilidad en la tasa de consumo de oxígeno cuando son expuestos a metales como aluminio y cloruros, la respuesta obtenida para los metales de hierro y cromo señalan que los efectos en la tasa de consumo de oxígeno se ve afectada en concentraciones de 1,2mg/l y 1,6 mg/l respectivamente.

**Tabla N° 29. Valores de NOEC para Ephemeropteros, expresados en mg/L**

Variable	Sustancia	Metal	NOEC
Consumo de oxígeno	Sulfato aluminio $Al_2(SO_4)_3$	Al	0.5
Consumo de oxígeno	Cloruro de hierro( $FeCl_3$ )	Fe	1.2
Consumo de oxígeno	Cloruro de sodio ( NaCl)	Cl-	0.6
Consumo de oxígeno	Cromo ( $K_2Cr_2O_7$ )	Cr	1.6

## Resultados crónicos con peces

Se realizaron mediciones preliminares de consumo de oxígeno en Bagre *T. aereolatus*, considerando una medición efectiva cada 10 minutos en tres eventos de medición distintos a temperatura constante de 14°C., cuya reducción no sobrepase el 30% de oxígeno. Ambos peces similar talla y peso. Se empleó un estándar de 0 mg/L oxígeno, preparado con Sulfito de sodio (sigma)  $\text{Na}_2\text{O}_3\text{S}$  (Figura 13).

Un ejemplar presento una conducta altamente móvil y presentó el doble del consumo de oxígeno en todas las mediciones, las desviaciones en los registros fueron bajas.



Figura 13. Ejemplares de Bioensayos y toma de datos.

## Resultados Ensayo crónico en *T. aereolatus*.

La Tabla 30 entrega los valores de NOEC obtenidos de los bioensayos de toxicidad crónicas para los peces *T. aereolatus*.

Tabla N° 30. Valores de NOEC para *T. aereolatus*, valores entregados en (mg/L).

	<b>Pez 1 longitud 53 mm Peso 1,5 g mg/L</b>	<b>Pez 2 Longitud 57 mm Peso 1,9 g mg/L</b>
10 minutos	0,58	1,42
	0,39	1
	0,41	0,8
	0,4	1,2
Promedio	0,45	1,11
desv.	0,09	0,27

Estos resultados son solo referenciales a fin de realizar nuevas y mayor número de lecturas. Los resultados indican que hay una alta variación en ejemplares de similar talla, esto solo producto de el alto estrés en el que se observaba el ejemplar N°2. Pero es posible realizar los ensayos con esta especie si hubiese densidades de captura adecuadas.

### Ensayos crónicos en *Galaxias maculatus*

La batería del ensayo consistió en la evaluación del consumo de oxígeno por parte de la especie *Galaxias maculatus* expuesto a diferentes concentraciones de metales.

**Tabla N° 31. Valores de NOEC *Galaxias maculatus* expresados en mg/l**

Variable	Sustancia	Metal	NOEC
Consumo de oxígeno	Sulfato aluminio $Al_2(SO_4)_3$	Al	0,5
Consumo de oxígeno	Cloruro de hierro( $FeCl_3$ )	Fe	0,6
Consumo de oxígeno	Cloruro de sodio ( NaCl)	Cl-	4,55
Consumo de oxígeno	Cromo ( $K_2Cr_2O_7$ )	Cr	0,24

### Resultados Ensayo crónico en *Lemna valdiviana*

En este capítulo se presentan los resultados para los bioensayos estáticos de inhibición crónica con *Lemna valdiviana* expuesto sulfato de aluminio, cloruro de hierro, cloruro de sodio y cromo, durante 7 días según la norma DIN ISO 20079 y se evaluaron tres puntos finales: Número de frondas, Área de frondas y Biomasa.

La Tabla 32 entrega los valores de NOEC obtenidos de los bioensayos de toxicidad crónica para el compuesto dicromato de potasio (mg Cr /L).

**Tabla N° 32. Valores de NOEC para *Lemna valdiviana* expuesto a dicromato de potasio, valores entregados en (mgCr/L).**

Variable	Bioensayo	NOEC	Promedio
<b>Biomasa</b>	1	0,081	
	2	0,176	
	3	0,220	0,159
<b>Área de Frondas</b>	1	0,081	
	2	0,353	
	3	0,088	0,174
<b>Nro. De Frondas</b>	1	0,220	
	2	0,176	
	3	0,353	0,250

Según los datos obtenidos el parámetro de mayor sensibilidad lo representa la biomasa total con un NOEC de 0,159 (mgCr/L), seguido por el área de las frondas con un NOEC de 0,174 (mgCr/L) y número de frondas con un NOEC de 0,250 (mgCr/L), resultando en un NOEC promedio de 0,194 mgCr/L.

La tabla 33 entrega los valores de NOEC obtenidos de los bioensayos de toxicidad crónica para el compuesto sulfato de aluminio (mg Al /L).

**Tabla N° 33. Valores de NOEC para *Lemna valdiviana* expuesto a sulfato de aluminio, valores entregados en (mgAl/L).**

Parámetro	Bioensayo	NOEC	Promedio
<b>Biomasa</b>	1	0,5	
	2	8,0	4,25
<b>Área de Frondas</b>	1	0,5	
	2	2,0	1,25
<b>Nro. De Frondas</b>	1	0,5	
	2	-	0,5

Según los datos obtenidos el parámetro de mayor sensibilidad lo representa el número de frondas con un NOEC de 0,5 (mgAl/L), seguido por el área de las frondas con un NOEC de 1,25 (mgAl/L) y biomasa total con un NOEC de 4,25 (mgAl/L), resultando en un NOEC promedio de 2,0 mgAl/L.

La tabla 34 entrega los valores de NOEC obtenidos de los bioensayos de toxicidad crónica para el compuesto cloruro de sodio (g Cl /L).

**Tabla N° 34. Valores de NOEC para *Lemna valdiviana* expuesto a cloruro de sodio, valores entregados en (g Cl/L).**

Parámetro	Bioensayo	NOEC	Promedio
<b>Biomasa</b>	1	0,5	
	2	1,0	0,75
<b>Área de Frondas</b>	1	1,0	
	2	1,0	1,0
<b>Nro. De Frondas</b>	1	0,5	
	2	0,5	0,5

Según los datos obtenidos el parámetro de mayor sensibilidad lo representa el número de frondas con un NOEC de 0,5 (gCl/L), seguido por biomasa total con un NOEC de 0,75 (gCl/L) y el área de las frondas con un NOEC de 1,0 (gCl/L), resultando en un NOEC promedio de 0,75 gCL/l

La tabla 35 entrega los valores de NOEC obtenidos de los bioensayos de toxicidad crónica para el compuesto cloruro de hierro (mg Fe /L).

**Tabla N° 35. Valores de NOEC para *Lemna valdiviana* expuesto a cloruro de hierro, valores entregados en (mg Fe/L).**

Parámetro	Bioensayo	NOEC	Promedio
<b>Biomasa</b>	1	1,0	
	2	0,1	0,55
<b>Área de Frondas</b>	1	0,1	
	2	<0,1	0,1
<b>Nro. De Frondas</b>	1	5,0	
	2	-	5,0

Según los datos obtenidos el parámetro de mayor sensibilidad lo representa el área de las frondas con un NOEC de 0,1 (mgFe/L), seguido por la biomasa total con un NOEC de 0,55 (mgFe/L) y número de frondas con un NOEC de 5,0 (mgFe/L), resultando en un NOEC promedio de 1,88 mgAl/L.

## CARACTERIZACIÓN DEL RIESGO ECOLÓGICO.

### Componente 5. Caracterizar el riesgo ecológico para las especies seleccionadas (evaluación de efectos y evaluación de exposición).

#### Evaluación de riesgo

El desarrollo de este estudio se basó en el enfoque de la Evaluación de Riesgo Ecológico, que sigue el siguiente flujo metodológico básico, como se muestra en la Figura 14.

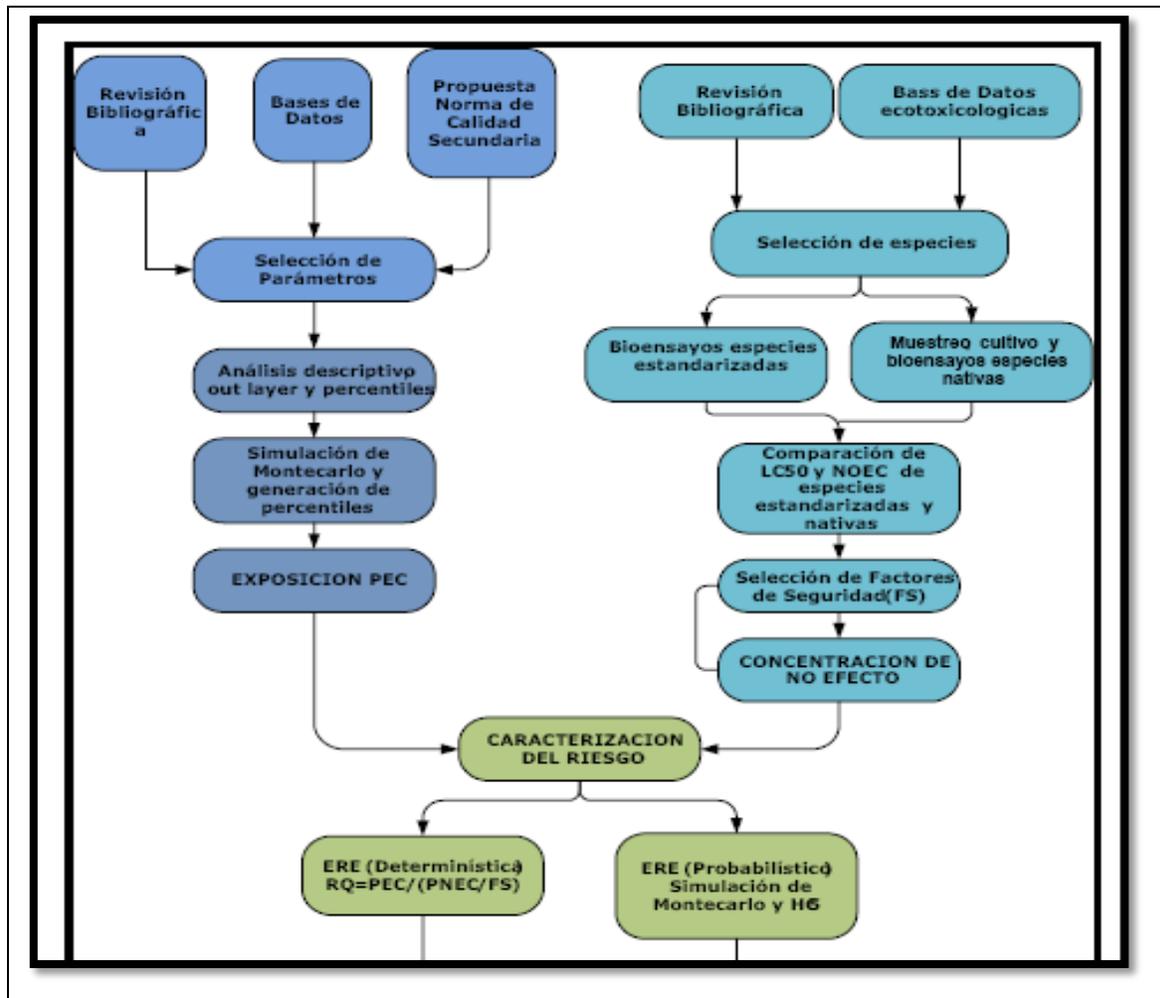


Figura 14. Flujo metodológico caracterización de riesgo

La Caracterización del Riesgo es la última etapa de este estudio, se basa en la integración de los datos de exposición obtenidos a través de datos de monitoreo químico y los datos de los efectos obtenidos por los bioensayos, en este caso sobre la base de datos bibliográficos debido a la falta de información ecotoxicológica para especies y ambientes chileno. Para

estimar el riesgo ecológico se utilizara el método más usual, el que consiste en dividir la concentración prevista en el ambiente (exposición), con la concentración que produce un efecto ambiental inaceptable (efecto) (PNUMA, 1999).

### Análisis de exposición

El resumen descriptivo de la exposición de estos parámetros a lo largo de la cuenca se presenta en Tabla 36, en el cual se entregan los valores de los percentiles para cada parámetro seleccionado en la Cuenca del Biobío de las campañas de monitoreo provenientes de la DGA, ENDESA y EULA.

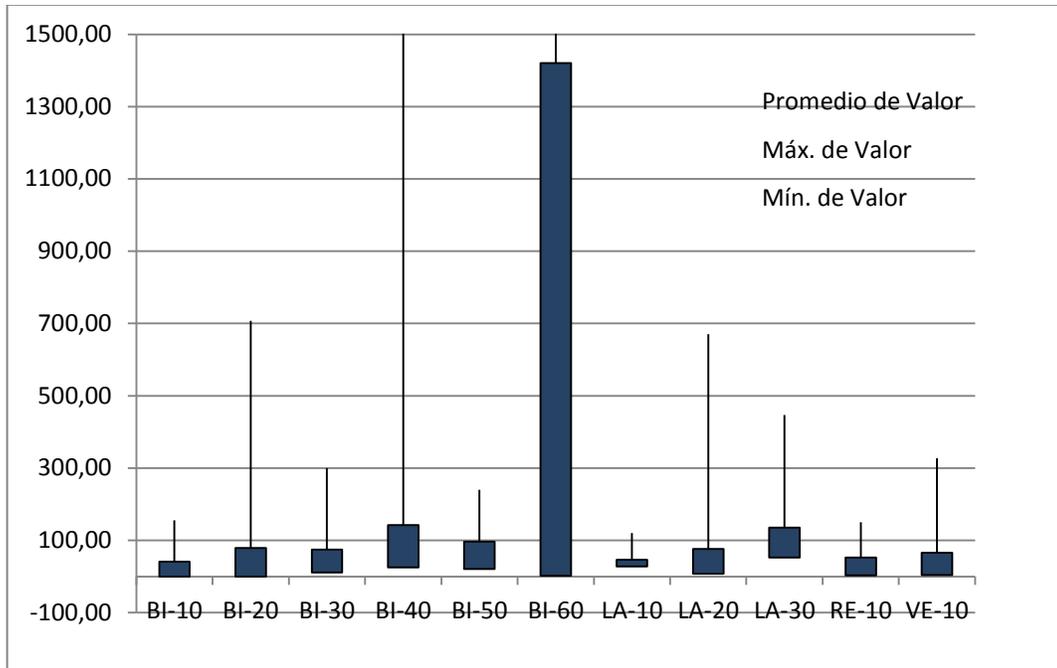
**Tabla N° 36. Valores de percentiles de los parámetros seleccionados en la cuenca Biobío en mg/l.**

	Percentil	10	20	30	40	50	60	66	70	80	90	99	100
BI-10	Al	0,12	0,23	0,30	0,30	0,35	0,40	0,40	0,40	0,50	0,80	1,50	1,50
	Cl-	0,80	1,50	1,80	2,13	2,80	3,26	4,02	8,54	119,20	992,98	14203,35	19291,20
	Cr+6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,04	0,05
	Fe	0,07	0,11	0,13	0,16	0,19	0,24	0,28	0,30	0,40	0,59	1,62	1,93
	OD	8,985	9,23	9,51	9,61	10,19	10,585	11,015	11,25	11,63	13,1	13,655	14,25
	BI-20	Al	0,06	0,10	0,21	0,30	0,30	0,40	0,46	0,50	0,50	0,76	3,28
Al Dis		0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,08	0,10	0,11	0,14	0,31	1,50	1,58
Cl-		1,50	2,40	3,00	3,70	4,50	5,60	6,20	6,80	11,90	117,40	249,00	620,00
Cr+6		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,15	0,32
Fe		0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,02	0,03	0,14	0,39	1,76	6,20
FeDis		0,02	0,05	0,06	0,08	0,10	0,13	0,15	0,18	0,22	0,43	0,67	0,69
OD		7,205	7,70	9,20	9,80	10,21	10,67	10,90	11,10	11,50	12,15	12,51	12,97
BI-30	Al	0,06	0,10	0,20	0,30	0,30	0,30	0,32	0,40	0,50	0,60	1,20	17,40
	Al Dis	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,10	0,11	0,12	0,18	0,33	1,48	1,71
	Cl-	2,13	2,78	3,20	3,55	3,90	4,24	4,60	4,86	6,38	8,94	15,24	19,14
	Cr+6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,11	0,96
	Fe	0,05	0,08	0,12	0,15	0,20	0,24	0,28	0,31	0,46	0,74	1,80	6,47
	FeDis	0,05	0,08	0,11	0,13	0,14	0,17	0,19	0,20	0,29	0,34	0,46	0,47
	OD	6,93	8,76	9,20	9,48	9,82	10,13	10,36	10,46	10,90	11,45	11,66	12,27
BI-40	Al	0,10	0,30	0,30	0,34	0,50	0,50	0,50	0,60	0,78	0,97	2,85	2,90
	Al Dis	0,06	0,10	0,10	0,11	0,19	0,20	0,23	0,25	0,36	0,69	2,70	3,81
	Cl-	3,05	3,50	3,57	3,90	4,25	4,73	4,96	5,00	5,30	5,69	9,87	11,70
	Cr+6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,08	0,26
	Fe	0,27	0,38	0,47	0,53	0,61	0,73	0,81	0,85	0,97	1,40	2,41	3,40
	FeDis	0,07	0,09	0,11	0,14	0,16	0,25	0,27	0,29	0,34	0,53	0,75	0,75
	OD	6,84	7,80	8,35	8,80	9,10	9,40	9,60	9,80	10,10	10,80	12,04	12,90
BI-50	Al	0,06	0,10	0,20	0,30	0,30	0,50	0,50	0,60	0,80	1,00	3,59	3,98
	Al Dis	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,11	0,13	0,17	0,26	0,82	3,84	5,06
	Cl-	3,50	4,67	6,66	7,79	9,72	13,50	14,20	14,50	15,54	16,21	156,21	319,90
	Cr+6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,07
	Fe	0,11	0,16	0,20	0,27	0,36	0,40	0,46	0,53	0,69	1,15	3,82	4,60

	FeDis	0,04	0,05	0,08	0,11	0,13	0,26	0,30	0,35	0,55	0,68	1,19	1,28
	OD	7,59	8,45	8,64	8,94	9,25	9,81	10,11(p65)	10,36	10,65	11,44	12,19 (p95)	13,18
BI-60	Al	0,06	0,20	0,30	0,30	0,30	0,40	0,41	0,50	0,50	0,80	2,12	4,90
	Al Dis	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,11	0,14	0,16	0,19	0,78	2,97	3,92
	Cl-	7,12	9,84	14,29	27,56	44,30	126,30	203,70	269,91	466,09	764,60	11534,76	13687,20
	Cr+6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,35	0,78
	Fe	0,09	0,19	0,26	0,34	0,44	0,55	0,70	0,78	1,01	1,48	4,84	34,21
	FeDis	0,09	0,12	0,16	0,20	0,22	0,23	0,24	0,25	0,39	0,67	0,96	0,99
	OD	6,63	7,44	7,90	8,20	8,46	8,80	8,95	9,12	9,66	10,32	12,60	15,40
LA-10	Al	0,10	0,15	0,20	0,20	0,30	0,30	0,30	0,30	0,50	0,50	1,18	1,30
	Cl-	1,39	1,72	2,10	2,50	2,80	3,19	3,50	3,58	4,25	4,50	8,92	9,55
	Cr+6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,04	0,04
	Fe	0,01	0,02	0,03	0,04	0,06	0,08	0,10	0,10	0,16	0,25	0,76	24,20
	OD	10,45 5	11,19	11,75	11,95	12,145	12,395	4,95 (p 65)	12,695	13,015	13,13	13,34 (p 95)	13,73

	Percentil	10	20	30	40	50	60	66	70	80	90	99	100
LA-20	Al	0,06	0,10	0,20	0,30	0,30	0,30	0,30	0,36	0,50	0,50	1,26	1,50
	ALDis	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,19	0,47	0,56
	Cl-	1,62	2,13	2,73	3,20	3,40	3,55	4,25	4,61	5,00	7,09	15,60	16,31
	Cr+6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,11	0,13
	Fe	0,07	0,10	0,15	0,17	0,22	0,29	0,34	0,35	0,41	0,75	2,98	3,07
	OD	8,36	9,20	9,40	9,68	10,00	10,20	10,40	10,60	11,12	11,40	12,70	13,10
LA-30	Al	0,08	0,23	0,30	0,30	0,50	0,56	0,60	0,70	1,17	2,31	4,32	4,60
	ALDis	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,10	0,12	0,15	0,21	0,54	1,61	3,13
	Cl-	4,21	4,67	4,81	5,26	5,90	6,24	6,29	6,31	6,56	9,08	12,83	12,90
	Cr+6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,05	0,07
	Fe	0,14	0,23	0,30	0,39	0,43	0,64	0,80	0,88	1,09	1,92	3,67	4,41
	FeDis	0,10	0,13	0,14	0,16	0,22	0,26	0,29	0,30	0,40	0,62	0,87	0,88
	OD	7,60	8,18	8,50	8,80	9,24	9,70	9,80	9,90	10,28	10,70	11,70	11,90
RE-10	Al	0,10	0,20	0,30	0,30	0,30	0,40	0,50	0,50	0,50	0,59	1,54	4,10
	ALDis												
	Cl-	1,80	2,50	2,80	3,19	3,55	3,90	4,26	4,40	4,87	5,64	9,50	19,90
	Cr+6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,10	0,27
	Fe	0,03	0,05	0,06	0,09	0,15	0,20	0,22	0,24	0,33	0,45	0,93	2,56
	FeDis												
	OD	8,805	8,935	9,08	9,165	9,77	10,165	10,3 (p65)	10,325	10,65	11,02	11,22 (p95)	11,47
VE-10	Al	0,20	0,30	0,30	0,30	0,50	0,50	0,50	0,52	0,70	1,04	8,05	10,80
	ALDis	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,11	0,18	0,31	0,42	0,63	4,70	6,81
	Cl-	1,86	2,43	2,80	3,05	3,45	3,90	4,21	4,47	5,02	6,01	7,84	8,86
	Cr+6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,06	0,10
	Fe	0,07	0,10	0,16	0,24	0,36	0,46	0,53	0,61	0,75	1,14	4,73	6,90
	FeDis	0,13	0,17	0,22	0,29	0,38	0,40	0,40	0,41	0,60	0,92	1,05	1,07
	OD	8,6	8,93	9,1	9,6	9,965	10,13	10,18 (p65)	10,2	10,4	10,65	10,765 (p95)	11,03

La estación BI 60, presenta un valor promedio 1420 uS/cm de conductividad y un valor máximo registrado de 49900 uS/cm. El resto de las estaciones sin considerar la BI60 corresponde a 80,9 uS/cm de conductividad promedio. La estación BI60 tiene influencia marina, de tal forma que no debería ser considerada para el análisis de riesgo.



**Figura 15. Perfil de medias de Conductividad de las estaciones en la cuenca del Biobío.**

### Análisis de los efectos

Se realizó una revisión bibliográfica, elaborándose una base de datos de NOEC para los parámetros seleccionados (Aluminio, Hierro, Cromo, Cloruro y Oxígeno disuelto). El resumen de la cantidad de valores para cada parámetro se describe en la tabla 37. Este valor corresponde a información de bases de datos diferentes; (1) fuentes bibliográficas (BD), (2) base del equipo consultor del proyecto cuenca del Valdivia (UCT Valdivia) y (3) valores obtenidos de esta consultoría (UCT Biobío). Cabe mencionar que de esta base final emanaron los valores de referencia para el análisis de riesgo ecológico.

**Tabla N° 37. Numero de datos de parámetros seleccionados en la cuenca Biobío en mg/l, según bases UCT, y Bibliografía.**

Bases de datos	EC50	IC10	IC25	LOEC	MACT	MATC	NOEC	Total general
<b>BD</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>10</b>	<b>101</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>94</b>	<b>217</b>
ALUMINIO				22			35	57
Cloruros	1	2	10	7	2		11	35
Cromo				38		3	27	68
HIERRO				14			18	32
OD				20			3	25
<b>UCT Biobio</b>							<b>22</b>	<b>22</b>
ALUMINIO							5	5
Cloruros							5	5
Cromo							5	5
HIERRO							5	5
OD							2	2
<b>UCT Valdivia</b>							<b>18</b>	<b>18</b>
ALUMINIO							9	9
HIERRO							9	9
<b>Total general</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>10</b>	<b>101</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>129</b>	<b>253</b>

A modo de poder visualizar los valores de referencia bibliográfica y los valores establecidos en los programas de bioensayos desarrollados por el consultor, se muestra la figura 16. Cabe destacar que no se hace una caracterización por taxas, esta se puede ver con detalles en el Anexo Digital N° 1.

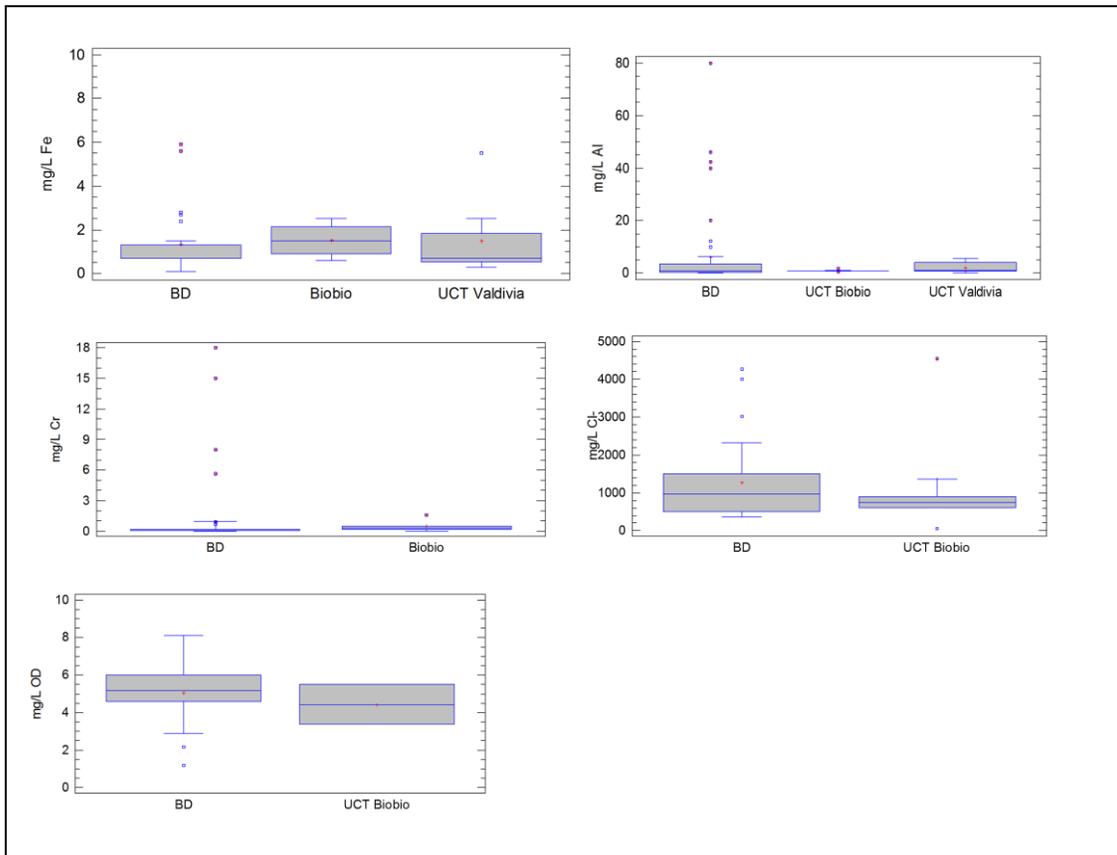


Figura 16. Valores promedios, máximos y mínimos de toxicidad crónica según parámetro y bases bibliográficas.

**Componente 6. Determinar, en base a la información teórica recopilada y la realización de bioensayos crónicos, el porcentaje de protección de especies que asegure la conservación de las funciones ecológicas y sostenibilidad de los ecosistemas que conforman la cuenca del río Biobío.**

### Caracterización Probabilística

El nivel de protección de especies que aseguren la conservación de las funciones ecológicas y sostenibilidad de los ecosistemas que conforman la cuenca del río Biobío, se realizó estimando las concentraciones de no efecto (PNEC) considerando su variabilidad mediante estimación de los percentiles y utilizando diferentes factores de seguridad. La estimación de las curvas de distribución de especies sensibles (SSD), se muestran en las siguientes figuras, donde se puede observar que la sensibilidad de las especies locales ensayadas se encuentran dentro de los rangos de distribución.

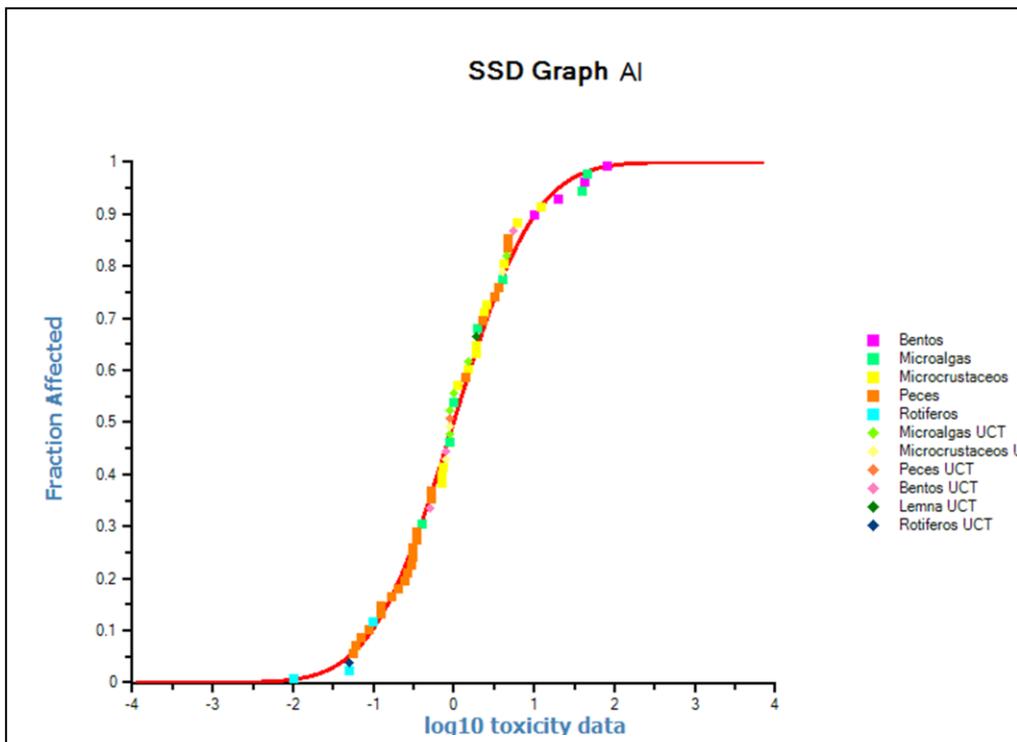


Figura 17. Distribución de sensibilidad especies (SSD) para Aluminio

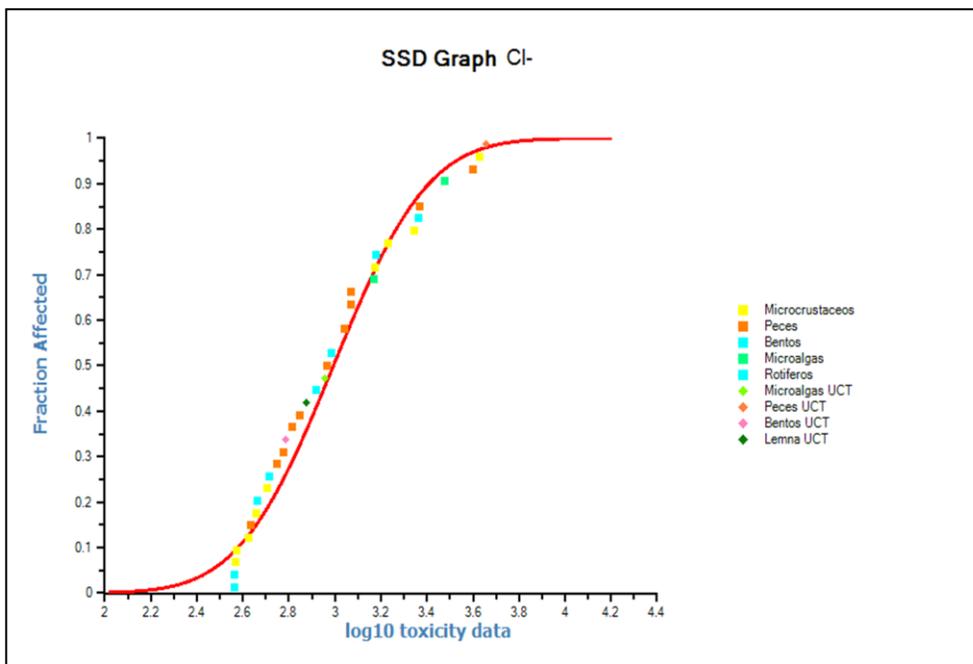


Figura 18. Distribución de sensibilidad especies (SSD) para Cloruros

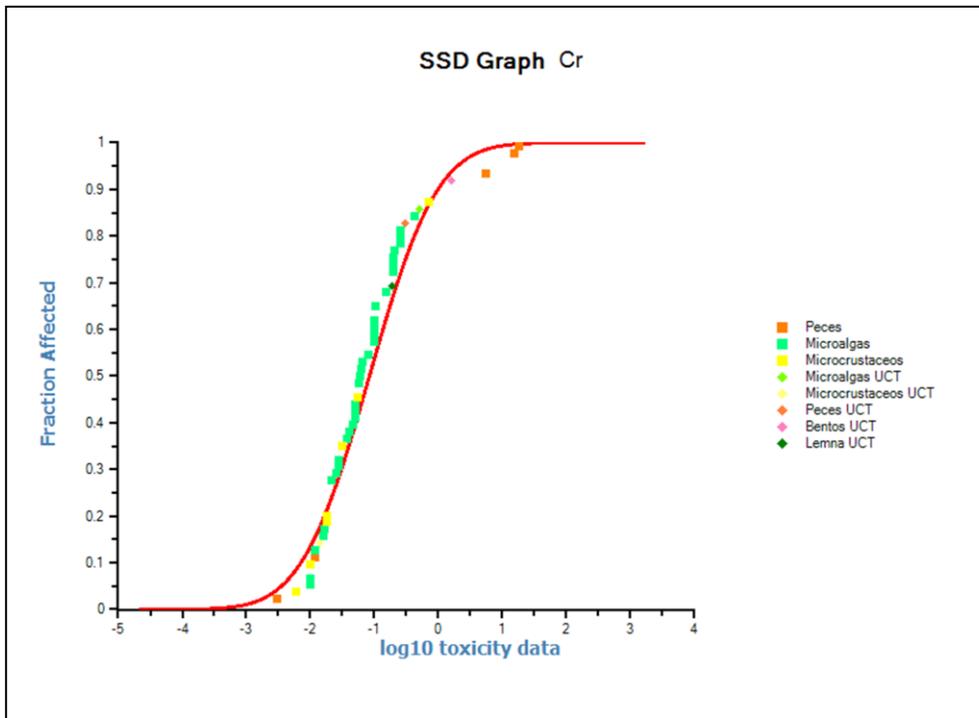


Figura 19. Distribución de sensibilidad especies (SSD) para Cromo

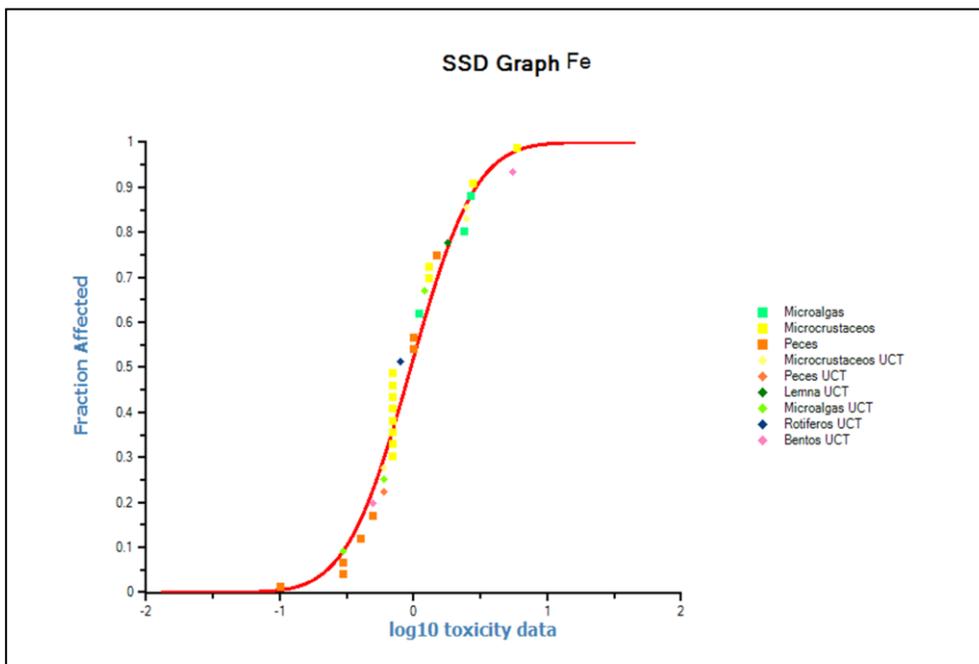


Figura 20. Distribución de sensibilidad especies (SSD) para Hierro

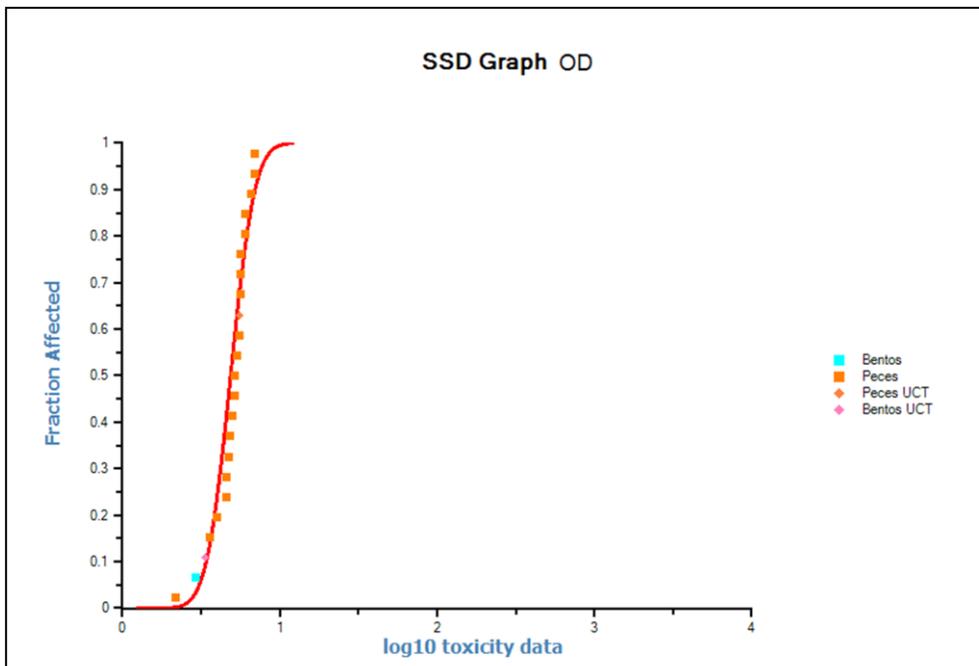


Figura 21. Distribución de sensibilidad especies (SSD) para Oxígeno Disuelto

En la Tabla 38, se muestran los valores propuestos para ser aplicados en la norma del secundaria de la cuenca del río Biobío basado en una aproximación de validación de riesgo probabilístico considerando la variabilidad en la sensibilidad de especies nativas y bases de datos bibliográficas. Los factores de seguridad recomendados para evaluación de riesgo realizados sobre la base de distribución de sensibilidad de especies se encuentran entre 1 y 5 de acuerdo a la Comisión Europea 2003. Para este caso se consideraron la variación natural del sistema.

**Tabla N° 38. Valores propuestos por UCT considerando especies nativas y bajo determinado factor de seguridad.**

	HC <sub>5</sub> (mg/L)	FS	Valor Propuesto UCT Biobío (mg/L)	HC <sub>5</sub> literatura (mg/L)	EPA (US)		CEE (mg/L)	PEC max (mg/L)	PEC min (mg/L)	P66 promedio (mg/L)	Observaciones
					Criterio Máxima Concentración (CMC)(mg/L)	Criterio de exposición Continua (CCC) (mg/L)					
Fe	0.29	1	0.29	0.016 (1)		1		3,4	0,02	0,34	
Al	0,048	1	0,05	0.052 (1)	0,75	0,087	0,0015	5,06	0,06	0,142	
Cr	0,03	1	0,03	0.0083 (1)	0,016	0,011		0,96	0,01	0,01	Los valores de Cr son Totales. Se recomienda medir disueltos
Cl	286	5	60,00	30 (2)	860	230		19291,2	0,8	34,45	
OD	3	2	6,00	6-5.5 (3)	30 días exp: 6.5 mg/L 7 días exp: 9.5mg/L 1 día exp. 8mg/L (primeros estados)		6.0 - 9.0	15,4	6,63	8,95	

**Componente 7. En función de los resultados obtenidos, discutir la factibilidad y ventajas que supondría la inclusión de estudios de evaluación de riesgo ecológico en el diseño normativo y en la estimación de los beneficios de las NSCA para la protección de agua superficiales.**

El fundamento teórico se basa en que una comunidad biológica natural cualquiera, los valores de un cierto —end point ecotoxicológico (LC50, NOEC, etc.) para las diversas especies, son independientes entre ellas y representan una estimación de la sensibilidad. Con varias de estas estimaciones es posible evaluar la variabilidad de la sensibilidad de todas las especies de la comunidad, la que también presenta una distribución simétrica. De este modo, la sensibilidad de las diferentes especies frente a la exposición a un tóxico (variabilidad interespecífica) está distribuida de forma análoga a la sensibilidad de los diversos individuos de una misma especie (variabilidad interespecífica). Tal distribución

sigue en general una curva de tipo log-logistístico, que representa la base para el cálculo del LC50 o LD50. La determinación de niveles de protección estimados a partir de una Evaluación de Riesgo Ecológico, debiera incluir tanto la variabilidad como la incertidumbre inherentes al problema, para lo cual se pueden utilizar métodos de simulación probabilística, que introducen una serie de ventajas por sobre los enfoques determinísticos, entre las que se cuentan: (i) los valores de toxicidad (PNEC) y exposición (PEC), se pueden definir como distribuciones estadísticas que cubren el rango completo de valores posibles, y son distribuidos de acuerdo a su probabilidad de ocurrencia; (ii) los parámetros de PNEC y PEC pueden variar aleatoria y simultáneamente, permitiendo la propagación de la incertidumbre a través del modelo; y (iii) las simulaciones de Monte Carlo generan distribuciones de frecuencia estadísticamente válidas y totalmente caracterizadas, cubriendo el rango completo de valores posibles (Hoffman & Bartell 1994; Peirce & Meozzi 1998; O'Ryan & Díaz, 1999).

Para las evaluaciones de riesgo determinísticas, la selección de especies es un factor relevante y se deben seleccionar organismos de bioensayos con una alta sensibilidad a los xenobióticos. Habitualmente se establece como criterio en la selección de las especies, que correspondan a especies ecológicamente relevantes, sin embargo dado el bajo nivel de conocimiento de los aspectos ecológicos, tróficos y fisiológicos en ambientes marinos y dulce acuícolas en Chile, esto no es posible y es más bien intuitivo, por lo que finalmente se realizan ensayos con especies indicadoras y/o aquellas que tengan la posibilidad de ser mantenidas y/o cultivadas en el laboratorio, para finalmente utilizar la especie con un menor LC50 o NOEC de la serie de bioensayos. Por otra parte, en las evaluaciones probabilísticas del riesgo, se utiliza un rango amplio de poblaciones que permita recoger la variabilidad de sensibilidad del sistema en estudio. Posteriormente mediante la elaboración de curva de sensibilidad de especies (SSD) se estiman los HC<sub>5</sub>, que protegen el 95% de los ecosistemas. Por otra parte en ambos casos de evaluaciones, no se ha avanzado suficientemente en el efecto de mezclas de compuestos en el ambiente, sin embargo y a pesar esto ya es un avance significativo preguntarle a las poblaciones, que son los sujetos de protección de las normas de calidad secundaria.

La evaluación de riesgo corresponde a un proceso iterativo de complejidad creciente (Tabla 39). En el primer nivel (tier1), se realizan una evaluación determinística (cuociente de riesgo), considerando la información disponible y el peor escenario de exposición. Si en esta etapa no hay riesgo no se continúa, por otra parte si hay riesgo se debe pasar a un nivel 2 o superior. Los factores de seguridad (FS) en función de la incertidumbre asociada,

para lo cual hay criterios internacionales propuestos (Comisión Europea 1996; OECD 1992, Comisión Europea 2003). para las evaluaciones de riesgo probabilísticos utilizando curvas SSD se utilizan factores de seguridad entre 1 y 5. Para los niveles más altos de complejidad nivel 4 y 5), los valores de seguridad se discuten caso a caso.

**Tabla N° 39. Nivel de complejidad (tier) de la evaluación de riesgo, objetivos, productos y factores de seguridad.**

Nivel de Complejidad	Objetivo	Actividad	Producto	Factor de Seguridad
Nivel 1	Identificación de peligros	Ensayos mono-especie normalizados seleccionados	Métodos determinísticos	<p><b>FS= 1000:</b> Al menos un dato de toxicidad aguda L(E)C50 de cada nivel trófico (peces, zooplancton y algas) de una base de datos.</p> <p><b>FS= 100.</b> Un NOEC (peces o zooplancton).</p> <p><b>FS=50</b> Dos NOEC de especies representantes de dos niveles tróficos (peces y/o zooplancton y/o algas).</p> <p><b>FS= 10.</b> NOEC de al menos tres especies representantes de tres niveles tróficos.</p>
Nivel 2	Efectos sobre grupos de organismos	Muchos ensayos mono-especie	Métodos probabilísticos. Curvas SSD	1-5
Nivel 3:	Efectos sobre poblaciones	Ensayos mono-especie prolongados con fase de recuperación	Modelos Dinámica de poblaciones predictiva	Se revisa caso a caso
Nivel 4:	Efectos sobre comunidades	Ensayos multi-especie en laboratorio	Dinámica de poblaciones real	Se revisa caso a caso
Nivel 5:	Efectos sobre ecosistemas	Meso cosmos y ensayos de campo	Identificación de efectos relevantes	Se revisa caso a caso

Por otra parte, el establecer las relaciones entre las concentraciones y efectos agudos y crónicos, permite usar esta información en la evaluación económica, ya que para una determinada medida de regulación se puede estimar el nivel de protección del ecosistema y dependiendo de las especies analizadas estimar los beneficios económicos. Actualmente se discute respecto a la validez de la estimación del NOEC, ya que corresponde a una comparación múltiple (Test de Dunnet) y que depende de la varianza del ensayo. En este

sentido se sugiere utilizar los LC10 para ensayos crónicos ya que se desprende de una relación concentración efecto, esto facilita el análisis económico.

El proceso de ERE permite desarrollar, organizar y presentar información científica para la toma de decisiones relevantes en materia ambiental. Cuando la ERE es ejecutada a nivel de cuencas hidrográficas, ésta puede ser empleada para identificar los recursos valiosos, los recursos vulnerables, priorizar la colecta de información y establecer relaciones entre la actividad humana y los efectos potenciales (EPA 1998). Permitiendo identificar los valores ambientales de interés y los riesgos más importantes, y detectar la falta de información, apoyando las decisiones respecto a los enfoques de investigación que deben ser desarrollados a futuro en el área en estudio.

En Chile, la protección de los sistemas acuáticos se realiza a priori mediante la evaluación de proyectos en el marco del Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA) y/o a posteriori, a través de la fiscalización y control que verifica la aplicación de las normativas vigentes en el territorio nacional. La descarga de aguas residuales a las aguas superficiales y subterráneas está regulada por los D.S. 90 (2001) y D.S. 46 (2002) respectivamente, y sólo establecen los límites máximos y mínimos de la concentración o permanencia de sustancias, elementos, energía o combinación de ellos, basándose principalmente en normas extranjeras, y no considera las relaciones causales entre las concentraciones reguladas y los efectos sobre los ecosistemas locales amenazados (Medina & Encina 2003).

Por otro lado se debe considerar que los bienesayos con especies estandarizadas no siempre representan la sensibilidad de las especies de una zona de estudio. En este sentido las especies nativas pueden ser un mejor referente a la hora de tomar una decisión de la conservación de los ríos por lo cual se desarrolla la posibilidad de realizar dichas pruebas con este tipo de especies, un ejemplo corresponde a las comunidades de invertebrados bentónicos, comunidades que se encuentran en diferentes zonas de los sistemas fluviales ya que las corrientes arrastran material de las orillas y del fondo para ser usado como sustrato para este tipo de organismos.

La gran mayoría de los invertebrados bentónicos alrededor del 80% corresponden a grandes grupos de artrópodos y dentro de estos los insectos y en especial sus formas larvianas son más abundantes y serían adecuados para evaluar cambios, (Domínguez 1992) por lo cual son utilizados como indicadores biológicos debido a que presentan varias ventajas como ;(a) presencia en prácticamente todos los sistemas acuáticos continentales, lo cual posibilita realizar estudios comparativos; (b) su naturaleza sedentaria, la que permite un análisis

espacial de los efectos de las perturbaciones en el ambiente; (c) los muestreos cuantitativos y análisis de las muestras, que pueden ser realizados con equipos simples y de bajo costo, respecto a otros componentes de la biota acuática, razones suficientes para la selección de estos organismos.

En relación a las normas secundarias de calidad ambiental para aguas continentales, resulta fundamental determinar la efectividad de estas en relación al nivel de protección, mantención y recuperación de los ecosistemas acuáticos, ya que a pesar de que por definición lo establezcan, se han excluido sistemáticamente los criterios biológicos, que forman parte central respecto a estas normas.

De esta manera la Evaluación de Riesgo Ecológico permite realizar una predicción temprana y económica del riesgo ecológico a un nivel aceptable de certeza, constituyendo una herramienta confiable para la toma de decisiones en cuanto a regulación, control y fiscalización para la protección de los ecosistemas (ASTM 1988; Vighi 1989). Sin embargo para su buen desarrollo se requiere de modificaciones legales y la preparación de cuadros técnicos, pero fundamentalmente del desarrollo de un marco científico que permita:

- a) Desarrollar y mantener los cultivos de especies nativas ya establecidos en diferentes partes del país.
- b) Realización de ensayos con una alta confiabilidad, la sensibilidad y variabilidad de la respuesta de especies con relevancia ecológica frente a determinados xenobióticos, para lo cual es necesario realizar un mayor número de ensayos para los diferentes sistemas lóticos y lénticos del país, realizar ensayos agudos y crónicos que permitan aumentar la confiabilidad de los resultados disminuyendo los factores de seguridad utilizados.
- c) Establecer una base de datos de valores de LC50 y NOEC.
- d) Financiamiento y desarrollo de una base ecológica para interpretar los efectos observados y su relación con los impactos adversos a niveles de organización superior en los sistemas ecológicos de interés.
- e) En el plan de vigilancia, es necesario medir adicionalmente las concentraciones de metales disueltos, ya que estos están biodisponibles e interaccionan con las entidades biológicas.
- f) En la zona de vigilancia incorporar los ensayos de ecotoxicidad.
- g) Por medio de este estudio se aislaron especies locales y se implementaron cultivos de: *Selenastrum capricornutum*, *Daphnia pulex*, *Galaxias maculatus*, Ephemeropteros y *Lemna*

*valdivian*. Lo anterior es un gran avance puesto que a nivel nacional no se cuenta con cultivos de especies locales, la mantención de este material genético y ecotoxicológico y relevante experiencia adquirida permitirá el desarrollo de nuevos estudios y otras normas que contemplen de igual forma las características y respuestas de especies locales, permitiendo la protección de estos ecosistemas en su conjunto. Por tanto, este proyecto contribuye de manera significativa al desarrollo futuro de normativas nacionales que contemplen las características propias de los ecosistemas y especies locales, conduciendo a la protección efectiva de los sistemas acuáticos, fin último de las Normas Secundarias de Calidad de Aguas.

## 6 CONCLUSIONES

- i. En este trabajo se incorporaron 1.586 nuevos valores de LC50 y NOEC, siendo una importante contribución para las bases de datos de niveles de sensibilidad aguda y crónica de diversos xenobióticos en especies estandarizadas y locales.
- ii. Mediante el análisis y sistematización de los antecedentes bibliográficos existentes para la cuenca del Río Biobío, se recopiló un total de 22 estudios los cuales permitieron la compilación de antecedentes técnicos y científicos para la caracterización de la estructura comunitaria. La mayor parte de la información disponible se encuentra en formato digital y a libre disposición en bases de datos nacionales e internacional, sin embargo, un número indeterminado de estudios desarrollados en el marco de proyectos internos de diversas instituciones no se encuentran disponibles.
- iii. De acuerdo a la consulta de expertos realizada para la selección de especies ecológicamente relevantes, se estableció que de un total de 108 especies de fauna acuática, 68 de macrófitas y 18 de fitoplancton registradas en el listado preliminar, se seleccionaron las especies que cumplieron con los criterios previamente establecidos, para realizar los bioensayos a desarrollar en el presente estudio.
- iv. Los resultados crónicos para microalgas, *Selenastrum capricornutum* indican que hierro con un NOEC de 0,35mg/L es el metal más nocivo en contraposición de cloruro y aluminio con un NOEC de 0,9 mg/l en ambos casos.
- v. Los valores de NOEC estimados para ensayos con *Daphnia obtusa* muestran que esta especie es muy sensible a cromo y cloruro con valores de NOEC 0,014 mg/l .y NOEC 0,050 mg/L respectivamente.
- vi. Los ensayos realizados con *Galaxias maculatus* arrojaron que el consumo de oxígeno es afectado mayormente al exponer a los organismos a cromo NOEC 0,2mg/l y que presentan mayor tolerancia a cloruros con un NOEC de 4,5 mg/l.
- vii. En los resultados obtenidos en los ensayos con Lemma Valdiviana se evidencia la alta sensibilidad en la biomasa, área de frondas y número de frondas al estar expuesto a concentraciones de cloruro.

## 7 BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.

1. ASTM. (1988) Standard Guide for Assessing the Hazard of a Material to Aquatic Organism and their Uses. The American Society for Testing and Materials. E 1023-84 (Reapproved 1988). Annual Book of ASTM Standards, (11.01): 599-614.
2. Camousseight A (2006), Estado de Conocimiento de los Ephemeroptera de Chile. Gayana 70(1): 50-56
3. CEPAL (2010). Terremoto en Chile, Una primera mirada al 10 de marzo de 2010. Publicación de las Naciones Unidas, Santiago, Comisión Económica para América Latina.
4. CONAF, CONAMA y UACH (2011). Catastro del uso del suelo y vegetación: Monitoreo y actualización. Región del Biobío y Región del Maule.
5. Comisión Europea (2003) Technical Guidance. Document on Risk Assessment. Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances 337 pp.
6. Directive 91/414/EEC. (2002) Guide document on Aquatic Ecotoxicology. p. 227-247 Sanco/3268/2001 ver 4. European Commission Health and Consumer Protection. Directorate General. 62 Brussels, Belgium.
7. DGA (2010). "Derechos de aprovechamiento de agua superficial."
8. Directive 91/414/EEC (2002). Guide document on Aquatic Ecotoxicology. Sanco/3268/2001 ver 4. European Commission Health and Consumer Protection. Directorate General. 62 pp. Brussels, Belgium.
9. DOMÍNGUEZ, MICHAEL D. HUBBARD Y WILLIAM L. PETERS (1992) Clave Para Ninfas Y Adultos De Las Familias Y Géneros De Ephemeroptera (Insecta) Sudamericanos, Biología Acuática N° 16.
10. Dyer B (2000), Systematic review and biogeography of the freshwater. Estudios Oceanológicos (Chile). (19): 77-98
11. DUNNE JA, WILLIAMS RJ & MARTINEZ ND (2002a) Food-web structure and network theory: The role of connectance and size. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 99: 12917-12922.
12. DUNNE JA, WILLIAMS RJ & MARTINEZ ND (2002b) Network structure and biodiversity loss in food webs: robustness increases with connectance. Ecology Letters, 5: 558-567.
13. ENCINA, F. & O. DIAZ (2001). Contaminación, estimación del riesgo ecológico y protección asociado a algas bentónicas marinas. En Sustentabilidad de las biodiversidad Ed. K. Alvear & T. Antezana. Universidad de Concepción-Chile. 357-336 pp.
14. EPA (1994). Using Toxicity Tests in Ecological Risk Assessment ECO Update. Office of Emergency Remedial Response Hazardous Site Evaluation Division (5204G) Intermittent Bulletin Volume 2 Number 1.
15. EPA (1998). Report of the workshop on selecting input distributions for probabilistic assessments. EPA/630/R-98/004. 51pp
16. EPA (2002). Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Fifth Edition U.S. Environmental Protection Agency Office of Water Washington, EPA-821-R-02-012.
17. EULA (2002). Desarrollo de una Metodología para la evaluación y mitigación de la contaminación de aguas y suelos: aplicación a la cuenca del Río Chillán. Servicio Agrícola y Ganadero. 114 pp.
18. EULA (2007). Informe Final Proyecto: Programa de Monitoreo Ecotoxicológico de los efluentes industriales en el río Cruces, Provincia de Valdivia, Chile.
19. EULA (2009). Análisis general del impacto socioeconómico de la norma secundaria de calidad ambiental para la protección de las aguas del río Biobío, Concepción, Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile.

20. Habit et al (2006), Estado de Conocimiento de los Peces Dulceacuicolas de Chile. *Gayana* 70(1): 11-113
21. Hoffman F. O. & S M. Bartell (1994) *An Introductory Guide to Uncertainty Analysis. Environmental and Health Risk Assessment*, ES/ER/TM-35/R1, Oak
22. JARA (2006) Estado de Conocimiento de los Malascostraceos Dulceacuicolas de Chile, *Gayana* 70(1): 40-49
23. INE (1997). Instituto Nacional de Estadísticas. VI Censo Nacional Agropecuario. 1997.
24. IRIARTE A ET AL (2005), Invasive vertebrate species in Chile and their control and monitoring by governmental agencies. *Revista Chilena de Historia Natural* 78: 143-154
25. MEDINA M & F ENCINA (2003). Incorporación de la Evaluación de Riesgo Ecológico en el Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental para ecosistemas acuáticos en Chile. *Revista Ambiente y Desarrollo de CIPMA* 16 3-4:19-27
26. NEWMAN MEJ (2003) The structure and function of complex networks, *SIAM Review* 45, 167-256.
27. Orellana M.C (2006), Estado de Conocimiento de los Briozoos dulceacuícolas de Chile. *Gayana* 70(1): 96-99
28. Parada E & Peredo S (2006), Estado de Conocimiento de los Bivalvos Dulceacuicolas de Chile. *Gayana* 70(1): 82-87
29. USEPA (1989). *Métodos para evaluar el cumplimiento de las normas de limpieza*, vol. 1, Suelos y sólidos medios de comunicación, de publicación de la EPA 230/2-89/042.
30. USEPA (1992). *Análisis estadístico de la Zona de Vigilancia de agua de datos en instalaciones de la RCRA. Adición al Final Provisional de Orientación*. Washington, DC: Departamento de Residuos Sólidos. Julio de 1992.
31. USEPA (1996). *Del suelo de detección de orientación: Guía del usuario*. Oficina de Desechos Sólidos y Respuesta a Emergencias, EPA/540/R-96/018 Washington DC, abril de 1996.
32. USEPA (1998). *Bioassessment and Biocriterio*. Disponible en: [Http://www.epa.gov/ost/biocriteria/basics.html](http://www.epa.gov/ost/biocriteria/basics.html).
33. USEPA. 2002a. *Guía para la comparación de fondo y las concentraciones químicas en los suelos de los sitios CERCLA*. EPA 540-R-01-003-OSWER 9285.7-41. Septiembre de 2002.
34. USEPA. 2002b. *Cálculo de Alto Límites de confianza para las concentraciones de exposición en el punto sitios de residuos peligrosos*. OSWER 9285.6-10. Diciembre de 2002.
35. USEPA. De 2006. *Evaluación de la Calidad de Datos: Métodos estadísticos para los médicos*, la EPA QA/G-9S. EPA/240/B-06/003. Oficina de Información Ambiental, Washington, DC Descarga: <http://www.epa.gov/quality/qs-docs/g9s-final.pdf> [198 pp, 2.4MB, Acerca de PDF]
36. Parra, O., C. Valdovinos, E. Habit y R. Figueroa (2004). *Programa de Monitoreo de la Calidad del Agua del Sistema Río Biobío. Informe Técnico*, Concepción, Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, Universidad de Concepción.
37. Valdovinos C (2006), Estado de Conocimiento de los Gastropodos Dulceacuicolas de Chile. *Gayana* 70(1): 88-95
38. Van Leeuwen, C. and J. Hermens (1995). *Risk assessment of chemicals: an introduction*. 374 p. Kluwer Academic Publishers. Holanda.
39. Vera A & A Camousseight (2006), Estado de Conocimiento de los Plecopteros de Chile. *Gayana* 70(1): 57-64
40. VIGHI M (1989). *Ecotoxicología*. Ed. UTET Milano, Italia.

## 8 ANEXO

### Listado de especies presentes en la Cuenca del Río Biobío. Comunidad biológica: Fitoplancton.

FAMILIA	GENERO	ESPECIE	FUENTE
Fragilariaceae	<i>Asterionella</i>	<i>formosa</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Aulacoseiraceae	<i>Aulacoseira</i>	<i>granulata</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Cymbellaceae	<i>Cymbella</i>	<i>affinis</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Cymbellaceae	<i>Cyclotella</i>	<i>meneghiniana</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Fragilariaceae	<i>Diatoma</i>	<i>vulgare</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Fragilariaceae	<i>Fragilaria</i>	<i>ulna</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Fragilariaceae	<i>Fragilaria</i>	<i>sp</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Fragilariaceae	<i>Hannaea</i>	<i>arcus</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Gomphonemataceae	<i>Gomphoneis</i>	<i>minuta</i>	Rivera P (2006), Gayana 70(1): 1-7
Gomphonemataceae	<i>Gomphonema</i>	<i>angustatum</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Naviculaceae	<i>Navicula</i>	<i>dicephala</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Naviculaceae	<i>Navicula</i>	<i>viridula</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Bacillariaceae	<i>Nitzschia</i>	<i>sublinearis</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Bacillariaceae	<i>Nitzschia</i>	<i>paleacea</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Melosiraceae	<i>Melosira</i>	<i>varians</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Selenastraceae	<i>Monoraphidium</i>	<i>controtum</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Scenedesmaceae	<i>Scenedesmus</i>	<i>ecornis</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)
Scenedesmaceae	<i>Scenedesmus</i>	<i>quadricauda</i>	MOP (2011), Parra et al ,(1993)

### Listado de especies presentes en la Cuenca del Río Biobío. Flora Acuática

FAMILIA	GENERO	ESPECIE	Fuente
Ammiaceae	<i>Lilaeopsis</i>	<i>lineada</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Araliaceae	<i>Hydrocotyle</i>	<i>ranunculoides</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Araliaceae	<i>Hydrocotyle</i>	<i>volckmanni</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Asteraceae	<i>Aster</i>	<i>vali</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Asteraceae	<i>Cotula</i>	<i>coronopifolia</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Asteraceae	<i>Senecio</i>	<i>fistulosus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Asteraceae	<i>Senecio</i>	<i>zosteraefolius</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Compositae	<i>Hypochaeris</i>	<i>radicata</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Plantaginaceae	<i>Callitriche</i>	<i>deflexa</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Plantaginaceae	<i>Callitriche</i>	<i>palustris</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Plantaginaceae	<i>Callitriche</i>	<i>stagnalis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Plantaginaceae	<i>Callitriche</i>	<i>turbosa</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Lentibulariaceae	<i>Utricularia</i>	<i>tenuis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium</i>	<i>ambrosioides</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005

Chenopodiaceae	<i>Salicornia</i>	<i>fruticosa</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Caryophyllaceae	<i>Spergularia</i>	<i>rubra</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Polygonaceae	<i>Polygonum</i>	<i>hidropiperoides</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Elatinaceae	<i>Elatine</i>	<i>chilensis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Salicaceae	<i>Salix</i>	<i>viminalis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Haloragaceae	<i>Myriophyllum</i>	<i>brasiliense</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Haloragaceae	<i>Myriophyllum</i>	<i>elatinoides</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Crassulaceae	<i>Crassula</i>	<i>erecta</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Lythraceae	<i>Lythrum</i>	<i>album</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Myrtaceae	<i>Myrceugenia</i>	<i>exsucca</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Nymphaeaceae	<i>Nymphaea</i>	<i>alba</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Onograceae	<i>Jussiaea</i>	<i>repens</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Ranunculaceae	<i>Ranunculus</i>	<i>flagelliformis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Ranunculaceae	<i>Ranunculus</i>	<i>monanthos</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Scrophulariaceae	<i>Gratiola</i>	<i>peruviana</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Scrophulariaceae	<i>Limosella</i>	<i>subulata</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Scrophulariaceae	<i>Mimulus</i>	<i>bridgesii</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Scrophulariaceae	<i>Mimulus</i>	<i>luteus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Scrophulariaceae	<i>Veronica</i>	<i>anagallis-aquatica</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Alismataceae	<i>Alisma</i>	<i>plantago-aquatica</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Alismataceae	<i>Sagittaria</i>	<i>chilensis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Hydrocharitaceae	<i>Elodea</i>	<i>densa</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Juncaginaceae	<i>Triglochin</i>	<i>maritima</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Juncaginaceae	<i>Triglochin</i>	<i>striata</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Lemnaceae	<i>Lemna</i>	<i>valdiviana</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Potamogetonaceae	<i>Potamogeton</i>	<i>brasiliense</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Potamogetonaceae	<i>Potamogeton</i>	<i>gayi</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Potamogetonaceae	<i>Potamogeton</i>	<i>linguatus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Potamogetonaceae	<i>Potamogeton</i>	<i>lucens</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Potamogetonaceae	<i>Potamogeton</i>	<i>obtusifolius</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Potamogetonaceae	<i>Potamogeton</i>	<i>pectinatus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Potamogetonaceae	<i>Potamogeton</i>	<i>pusillus var. Tenuissimus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Potamogetonaceae	<i>Potamogeton</i>	<i>stenostachys</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Zannichelliaceae	<i>Zannichellia</i>	<i>palustris</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Cypareceae	<i>Cyperus</i>	<i>eragrostis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Cypareceae	<i>Heleocharis</i>	<i>pachycarpa</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Cypareceae	<i>Scirpus</i>	<i>americanus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Cypareceae	<i>Scirpus</i>	<i>californianus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Cypareceae	<i>Scirpus</i>	<i>cernuus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Cypareceae	<i>Scirpus</i>	<i>inundatus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Juncaceae	<i>Juncus</i>	<i>cyperoides</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Juncaceae	<i>Juncus</i>	<i>microcephalus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005

Juncaceae	<i>Juncus</i>	<i>procerus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Juncaceae	<i>Juncus</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Juncaceae	<i>Juncus</i>	<i>supiniformis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Juncaceae	<i>Juncus</i>	<i>supinus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Poaceae (Graminae)	<i>Arundo</i>	<i>donax</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Restionaceae	<i>Leptocarpus</i>	<i>chilensis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Typhaceae	<i>Typha</i>	<i>angustifolia</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Poaceae	<i>Holcus</i>	<i>lanatus</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Azollaceae	<i>Azolla</i>	<i>filiculoides</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Isoetaceae	<i>Isoetes</i>	<i>savatieri</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Acanthaceae	<i>Blechnum</i>	<i>penna-marina</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005

### Listado de especies presentes en la Cuenca del Río Biobío. Comunidad biológica: Invertebrados

FAMILIA	GENERO	ESPECIE	FUENTE
Hyalidae	<i>Hyalella</i>	<i>Chiloensis</i>	Jara C (2006)
Parastacidae	<i>Samastacus</i>	<i>spinifrons</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Aeglidae	<i>Aegla</i>	<i>sp.</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Aeglidae	<i>Aegla</i>	<i>pewenche</i>	Jara C (2006)
Aeglidae	<i>Aegla</i>	<i>expansa</i>	Jara C (2006)
Aeglidae	<i>Aegla</i>	<i>araucaniensis</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Aeglidae	<i>Aegla</i>	<i>bahamondei</i>	Jara C (2006)
Aeglidae	<i>Aegla</i>	<i>concepcionensis</i>	Jara C (2006)
Aeglidae	<i>Aegla</i>	<i>indet.</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Hydracarina	<i>Nd</i>		Varios autores
Planorbidae	<i>Biomphalaria</i>	<i>chilensis</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Planorbidae	<i>Biomphalaria</i>	<i>sp.</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2007
Sphaeriidae	<i>Pisidium</i>	<i>sp</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Sphaeriidae	<i>Pisidium</i>	<i>chilensis</i>	Parada E & Peredo S (2006)
Hyriidae	<i>Diplodon</i>	<i>chilensis</i>	Parada E & Peredo S (2006)
Ancylidae	<i>Gundlachia</i>	<i>gayana</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Physidae	<i>Physa</i>	<i>chilensis</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Physidae	<i>Physa</i>	<i>sp</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Chiliniidae	<i>Chilina</i>	<i>dombeyana</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2007
Chiliniidae	<i>Chilina</i>	<i>indet.</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2008
Chiliniidae	<i>Chilina</i>	<i>sp</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2009
Lymnaeidae	<i>Lymnaea</i>	<i>viator</i>	Valdovinos C (2006)
Hidrobiidae	<i>Littoridina</i>	<i>cumingii</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2010
Hidrobiidae	<i>Littoridina</i>	<i>cumingi</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2011
Elmidae	<i>Elmidae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Hydroptilidae	<i>Hydroptilidae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005

Hydrophilidae	<i>Enochrus</i>	<i>concepcionensis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2006
Ptilodactilidae	<i>Ptilodactilidae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Blephariceridae	<i>Blephariceridae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Ceratopogonidae	<i>Ceratopogonidae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Empididae	<i>Empididae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Limoniidae	<i>Limoniidae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Orthocladiinae	<i>Orthocladiinae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Tanypodinae	<i>Tanypodinae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Baetidae	<i>Andesiops</i>	<i>Peruvianus</i>	Camousseight A (2006)
Nesameletidae	<i>Metamonius</i>	<i>anceps</i>	Camousseight A (2006)
Ameletopsidae	<i>Chiloporter</i>	<i>penai</i>	Camousseight A (2006)
Oligoneuriidae	<i>Murphyella</i>	<i>needhami</i>	Camousseight A (2006)
Leptophlebiidae	<i>Meridialaris</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Leptophlebiidae	<i>Meridialaris</i>	<i>biobionica</i>	Camousseight A (2006)
Leptophlebiidae	<i>Meridialaris</i>	<i>inflata</i>	Camousseight A (2006)
Leptophlebiidae	<i>Hapsiphlebia</i>	<i>anastomosis</i>	Camousseight A (2006)
Leptophlebiidae	<i>Penaphlebia</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Caenidae	<i>Caenis</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Aphididae	<i>Aphididae</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Cicaellidae	<i>Cicaellidae</i>	<i>Nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Corixidae	<i>Corixidae</i>	<i>Nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Notonectidae	<i>Notonectidae</i>	<i>Nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Corydalidae	<i>Protochauloide</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Anisoptera	<i>Anisoptera</i>	<i>Nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Zygoptera	<i>Zygoptera</i>	<i>Nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Eustheniidae	<i>Neuroperlopsis</i>	<i>patris</i>	Vera A & A Camousseight (2006)
Diamphipnoidae	<i>Diamphipnoa</i>	<i>virescentipennis</i>	Vera A & A Camousseight (2006)
Grypopterygidae	<i>Antarctoperla</i>	<i>michaelseni</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Grypopterygidae	<i>Notoperlopsis</i>	<i>femina</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Grypopterygidae	<i>Pelurgoperla</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Grypopterygidae	<i>Limnoperla</i>	<i>jaffueli</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Grypopterygidae	<i>Araucanioperla</i>	<i>bullocki</i>	Vera A & A Camousseight (2006)
Grypopterygidae	<i>Plegoperla</i>	<i>punctata</i>	Vera A & A Camousseight (2006)
Grypopterygidae	<i>Plegoperla</i>	<i>borggreenae</i>	Vera A & A Camousseight (2006)
Grypopterygidae	<i>Teutoperla</i>	<i>auberti</i>	Vera A & A Camousseight (2006)
Grypopterygidae	<i>Teutoperla</i>	<i>rothi</i>	Vera A & A Camousseight (2006)
Notonemouridae	<i>Neonemoura</i>	<i>barrosi</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Notonemouridae	<i>Austronemoura</i>	<i>araucoana</i>	Vera A & A Camousseight (2006)
Notonemouridae	<i>Austronemoura</i>	<i>auberti</i>	Vera A & A Camousseight (2006)
Notonemouridae	<i>Austronemoura</i>	<i>caramavidensis</i>	Vera A & A Camousseight (2006)
Glossosomatidae	<i>Glossosomatidae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Leptoceridae	<i>Leptoceridae</i>	<i>nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005

Odontoceridae	<i>Odontoceridae</i>	<i>Nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Philopotamidae	<i>Dolophiloides</i>	<i>Nd</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Hydroptilidae	<i>Hydroptila</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Hydroptilidae	<i>Oxyethira</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Hydropsychidae	<i>Smicridea</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Gordiidae	<i>Gordius</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Naididae	<i>Tubifex</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Lumbriculidae	<i>Lumbriculus</i>	<i>sp</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Plumatellidae	<i>Plumatella</i>	<i>mukaii</i>	Orellana M.C (2006)
Nereididae	<i>Perineareis</i>	<i>gualpensis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005
Temnocephaloidea	<i>Temnocephala</i>	<i>chilensis</i>	Cade-Idepe, DGA, 2005

### Listado de especies presentes en la Cuenca del Río Biobío. Comunidad biológica: Peces.

FAMILIA	GENERO	ESPECIE	FUENTE
Diplomystidae	<i>Diplomystes</i>	<i>nahuelbutaensis</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Trichomycteridae	<i>Nematogenys</i>	<i>inermis</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Trichomycteridae	<i>Bullockia</i>	<i>maldonadoi</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Trichomycteridae	<i>Trichomycterus</i>	<i>areolatus</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Trichomycteridae	<i>Trichomycterus</i>	<i>chiltoni</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Galaxiidae	<i>Aplochiton</i>	<i>zebra</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Galaxiidae	<i>Galaxias</i>	<i>maculatus</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Galaxiidae	<i>Brachygalaxias</i>	<i>bullocki</i>	Dyer B (2000)
Galaxiidae	<i>Brachygalaxias</i>	<i>gothei</i>	Dyer B (2000)
Mugilidae	<i>Mugil</i>	<i>cephalus</i>	Dyer B (2000)
Salmonidae	<i>Oncorhynchus</i>	<i>mykiss</i>	Iriarte A et al (2005),
Salmonidae	<i>Salmo</i>	<i>trutta</i>	Cade-Idepe, DGA, 2004
Poecilidae	<i>Gambusia</i>	<i>affinis</i>	Valdovinos C & O Parra (2006)
Poecilidae	<i>Gambusia</i>	<i>holbrooki</i>	Valdovinos C & O Parra (2006)
Atherinopsidae	<i>Basilichthys</i>	<i>microlepidotus</i>	Dyer B (2000)
Atherinopsidae	<i>Basilichthys</i>	<i>australis</i>	Dyer B (2000)
Atherinopsidae	<i>Odontesthes</i>	<i>brevianalis</i>	Dyer B (2000)
Atherinopsidae	<i>Odontesthes</i>	<i>mauleanum</i>	Dyer B (2000)
Atherinopsidae	<i>Odontesthes</i>	<i>itatanum</i>	Dyer B (2000)
Percichthyidae	<i>Percichthys</i>	<i>trucha</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Percichthyidae	<i>Percichthys</i>	<i>melanops</i>	Habit et al (2006)
Percillidae	<i>Percilia</i>	<i>irwini</i>	Habit et al (2006)
Percillidae	<i>Percilia</i>	<i>gillisi</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006

Eleginopidae	<i>Eleginops</i>	<i>maclovinus</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Cyprinidae	<i>Cyprinus</i>	<i>carpio</i>	Habit et al (2006)
Characidae	<i>Cheirodon</i>	<i>galusdae</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Petromyzontidae	<i>Geotria</i>	<i>australis</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006
Petromyzontidae	<i>Mordacia</i>	<i>lapicida</i>	GESAM-SERNAPESCA, 2006