UNIVERSIDAD DE VALPARAISO

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
Y DE RECURSOS NATURALES

CARRERA DE BIOLOGIA MARINA

"ELABORACION DE UN PROTOCOLO PARA ESTUDIOS DE ECOLOGIA MARINA"

INFORME DE HABILITACION PROFESIONAL

PIA LORETO ARAVENA BUSTOS

63e

2010

marc59067

M
AR663e
2010

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR Y DE RECURSOS NATURALES

CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

"ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA ESTUDIOS DE ECOLOGIA MARINA"

INFORME DE HABILITACIÓN PROFESIONAL

UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
247
BIBLIOTECA
FACULTAD DE CS. DEL MAR Y DE RECURSOS NATURALES

PIA LORETO ARAVENA BUSTOS

2010

PIA LORETO ARAVENA BUSTOS

Trabajo de Titulación presentado en conformidad a los requisitos para obtener el título profesional de Biólogo Marino

COMISIÓN DE TÍTULO:

Tomás Fonseca Figueroa
Oceanógrafo
Director
Aquambiente Ltda.

Dra. María Isabel Toledo Donoso
Ingeniero Pesquero
Miembro de la Comisión
Pontificia Universidad Católica
de Valparaíso

Bernardo Malet Retamales
Oceanógrafo
Miembro de la Comisión
Universidad de Valparaíso

2010

TABLA DE CONTENIDOS

APROBACIÓN.....ii

TABLA DE CONTENIDOS.....iii

AGRADECIMIENTOS..... vi

LISTA DE TABLAS.....vii

LISTA DE FIGURAS.....ix

RESUMEN.....xii

INTRODUCCION.....2

OBJETIVOS.....4

ESTUDIO DE COMUNIDADES PLANCTÓNICAS.....6

Preparación del programa de muestreo.....6

Materiales para el muestreo y análisis de muestras de plancton.....13

Muestreo de Fitoplancton.....15

Muestreo de Zooplancton.....34

Análisis estadístico de la información.....46

DETERMINACION DE OXIGENO DISUELTO EN LA COLUMNA DE AGUA....50

Preparación del programa de muestreo.....50

Materiales para la determinación de oxígeno disuelto en la columna de agua....50

Metodología y manejo de muestras.....51

Análisis estadístico de la información.....53

DETERMINACION DE COLIFORMES FECALES EN LA COLUMNA DE AGUA

Preparación del programa de muestreo.....55

Materiales para la determinación de coliformes fecales en la columna de agua...56

Metodología y manejo de muestras.....57

ESTUDIO DE COMUNIDADES BENTONICAS.....64

COMUNIDADES SUBMAREALES DE FONDO BLANDO.....75

Preparación del programa de muestreo.....75

Materiales para el estudio de comunidades bentónicas submareales de fondo blando.....76

Metodología y manejo de muestras.....77

Análisis estadístico de la información.....78

COMUNIDADES SUBMAREALES DE FONDO DURO.....83

Preparación del programa de muestreo.....83

Materiales para el estudio de comunidades bentónicas submareales de fondo duro.....84

Metodología y manejo de muestras.....85

Análisis estadístico de la información.....86

COMUNIDADES INTERMAREALES DE FONDO BLANDO.....89

Preparación del programa de muestreo.....89

Materiales para el estudio de las comunidades intermareales de fondo blando...90

Metodología y manejo de muestras.....91

Análisis estadístico de la información.....92

COMUNIDADES INTERMAREALES DE FONDO DURO.....95

Preparación del programa de muestreo.....95

Materiales para el estudio de comunidades intermareales de fondo duro.....96

Metodología y manejo de muestras.....97

Análisis estadístico de la información.....98

GRANULOMETRIA EN SEDIMENTOS MARINOS.....101

Preparación del programa de muestreo.....101

Materiales para el estudio de los sedimentos marinos 102

Metodología y manejo de muestras.....103

Análisis estadístico de la información.....104

DETERMINACION DE MATERIA ORGANICA TOTAL EN SEDIMENTOS MARINOS.....112

Preparación del programa de muestreo.....112

Materiales.....112

Metodología y manejo de muestras.....113

Análisis estadístico de la información.....114

PROCEDIMIENTO DE ACREDITACION DE LAS TECNICAS DE LABORATORIO EN EL INSTITUTO DE NORMALIZACION.....116

Competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.....116

Acreditación de las técnicas de laboratorio.....126

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....139

ANEXOS.....143

AGRADECIMIENTOS

Quiero comenzar agradeciéndole de todo corazón a mi marido Pablo por su apoyo constante desde el comienzo de esta larga etapa que por fin llega a su final y a mis hijos Rafaela y Mateo que me han inspirado y dado las fuerzas para poder seguir adelante y enfrentar todos los obstáculos para poder titularme. Muchas gracias amores de mi vida por que han sido el motor principal para poder terminar mi carrera, gracias por levantarme cada vez que lo necesité y gracias a ustedes pude lograr y ser lo que soy ahora.

A lo largo de este largo camino hay muchas personas a quienes tendría que agradecer como a mi papá que a pesar de las dificultades siempre estuvo ahí cada vez que lo necesité, a mi mamá y mis hermanos gracias por quererme y apoyarme, amigos y profesores que han estado ahí dándome fuerzas para poder llegar por fin a estas instancias, a todos ellos muchas gracias. No puedo dejar de agradecer de manera muy especial a mi suegrita que desde el comienzo me apoyó y fue una ayuda primordial para poder llegar hasta el final de esta etapa, gracias!!!

LISTA DE TABLAS

TABLA 1 EJEMPLOS DE ALGUNOS GÉNEROS DE FITOPLANCTON DE AGUAS CHILENAS.

TABLA 2 EJEMPLO DE LOS PRINCIPALES GENEROS DE ZOOPLANCTON EN AGUAS CHILENAS.

TABLA 3 EXTRACTO DE LA TABLA Mc CRADY PARA SERIE DE 5 TUBOS.

TABLA 4 CLASIFICACION DE LOS RESULTADOS DE ESTRÉS.

TABLA 5 FACTORES DE CONVERSION DE PESO DE VARIADOS TAXAS.

TABLA 6 ESCALA DE TAMAÑO DE GRANO DE WENTWORTH (1922).

TABLA 7 ESCALA DE CLASIFICACION DE VALORES DE DESVIACIÓN ESTANDAR GRAFICA INCLUSIVA

TABLA 8 ESCALA DE ASIMETRIA DE DISTRIBUCION DE LOS GRANOS DE SEDIMENTOS.

TABLA 9 GRADO DE CURTOSIS DE LA DISTRIBUCION.

TABLA 10 ARANCELES DE SOLICITUD DE ACREDITACION DE ACUERDO AL REGLAMENTO INN R410.

TABLA 11 ARANCEL DE SOLICITUD DE RE-ACREDITACION DE ACUERDO AL REGLAMENTO INN R410.

TABLA 12 ARANCEL DE AUDITORIA DE ACREDITACION DE ACUERDO AL REGLAMENTO INN R410
TABLA 13 ARANCEL DE MANTENCION DE ACUERDO AL REGLAMENTO INN R410.

TABLA 14 ARANCEL DE RENOVACION DE ACREDITACION DE ACUERDO AL REGLAMENTO INN R410.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 BOTELLA NANSEN.

FIGURA 2 BOTELLA NISKIN.

FIGURA 3 BOTELLA VAN DORN.

FIGURA 4 BOMBA DE SUCCIÓN.

FIGURA 5 RED DE PLANCTON.

FIGURA 6 FORMULARIO PARA MUESTREO DE PLANCTON.

FIGURA 7 VISTA SUPERIOR Y LATERAL DE UNA CÁMARA PALMER-MALONEY.

FIGURA 8 VISTA SUPERIOR Y LATERAL DE UNA CÁMARA SEDGWICK-RAFTER.

FIGURA 9 VISTA SUPERIOR Y LATERAL DE UN HEMOCITÓMETRO.

FIGURA 10 VISTA SUPERIOR Y LATERAL DE UNA CÁMARA PETROFF-HAUSER.

FIGURA 11 A) CILINDROS DE SEDIMENTACION PARA MUESTRAS DE FITOPLANCTON. B) BASE O CÁMARA DE SEDIMENTACION. C) SISTEMA FIJO DE CILINDRO Y BASE PARA USO DE MICROSCOPIO INVERTIDO.

FIGURA 12 PROCEDIMIENTO DE SEDIMENTACION DE LAS MUESTRAS DE FITOPLANCTON

FIGURA 13 PLANILLA MODELO DE ORDENACION DE DATOS CRUDOS DE LOS RESULTADOS DEL RECUENTO CUALITATIVO Y CUANTITATIVO DE LAS MUESTRAS DE FITOPLANCTON.

FIGURA 14 PIPETA STEMPEL.

FIGURA 15 SEPARADOR FOLSOM.

FIGURA 16 PLANILLA MODELO PARA EXPRESAR LOS DATOS CRUDOS DE LAS MUESTRAS DE ZOOPLANCTON OBSERVADAS.

FIGURA 17 MODELO DE UN CTD.

FIGURA 18 MODELOS DE OXIGENÓMETROS.

FIGURA 19 PERFIL VERTICAL DE OXÍGENO DISUELTO EN LA COLUMNA DE AGUA.

FIGURA 20 PROCEDIMIENTO DEL TRATAMIENTO DE UNA MUESTRA DE AGUA UTILIZANDO LA METODOLOGIA DEL NMP.

FIGURA 21 MODELO DE UNA CURVA ABC.

FIGURA 22 MODELO DE UN DENDROGRAMA O CLUSTER DE SIMILITD BRAY-CURTIS.

FIGURA 23 MODELO DE UNA ORDENACION DE LAS ESTACIONES CON EL MÉTODO DE ESCALEMIENTO NO MÉTRICO.

FIGURA 24 DRAGA TIPO VAN VEEN.

FIGURA 25 PLANILLA EXCEL MODELO CON EL LISTADO DE LAS ESPECIES Y CALCULOS DE ABUNDANCIA Y BIOMASA EN COMUNIDADES SUBMAREALES DE FONDO BLANDO.

FIGURA 26 PLANILLA EXCEL MODELO CON EL LISTADO DE LAS ESPECIES Y CALCULOS DE ABUNDANCIA Y COBERTURA EN COMUNIDADES SUBMAREALES DE FONDO DURO.

FIGURA 27 PLANILLA EXCEL MODELO CON EL LISTADO DE LAS ESPECIES Y CALCULOS DE ABUNDANCIA Y BIOMASA EN COMUNIDADES INTERMAREALES DE FONDO BLANDO.

FIGURA 28 PLANILLA EXCEL MODELO CON EL LISTADO DE LAS ESPECIES Y CALCULOS DE ABUNDANCIA Y COBERTURA EN COMUNIDADES INTERMAREALES DE FONDO DURO.

FIGURA 29 MODELO DE LAS DIFERENTES CURVATURAS DE LAS CURVAS O CURTOSIS.

RESUMEN

Este trabajo tiene como objetivo principal generar un protocolo para estudios en ecología marina, enfocado principalmente en trabajos que tienen que ver con la labor de un biólogo marino en la realización de trabajos de consultoría medioambiental. Se colaboró en una empresa de consultoría donde se realizaron trabajos en terreno, análisis en laboratorio, procesamiento de datos hasta la realización de informes técnicos. Con éstos antecedentes junto con la revisión de bibliografía y la normativa vigente se genera un protocolo de trabajo.

El protocolo abarca temas variados como el estudio de las comunidades planctónicas, comunidades bentónicas de diferentes tipos de sustrato, estudio de sedimentos, determinación de materia orgánica total en los sedimentos así como también estudios en la columna de agua como la determinación de oxígeno disuelto y coliformes fecales. Se entrega para cada uno de estos estudios una detallada revisión de la metodología paso a paso, desde la preparación del muestreo hasta el análisis de los datos obtenidos de éste utilizando como complemento figuras, tablas y diagramas.

De manera complementaria, se hizo una revisión de antecedentes con los procesos de acreditación de las técnicas de laboratorio en el instituto de normalización (INN) entregando paso a paso los requisitos necesarios que debe cumplir la empresa o laboratorio para poder acreditarse como tal.

INTRODUCCION

Todos los proyectos que involucren una intervención en el medio ambiente, necesitan de un estudio previo a su establecimiento para lograr el menor impacto posible y no provocar desequilibrios en nuestro medio ambiente. Para esto es necesario contar con la ayuda de empresas y/o profesionales dedicados a la asesoría medio ambiental que aplican métodos de estudio para poder cumplir con la normativa.

El área de la consultoría marítima y medioambiental ha logrado en este último tiempo un gran auge y cada vez hay más profesionales del área dedicadas a este tipo de asesorías. Un Biólogo Marino puede desempeñarse en este campo debiendo tener conocimiento de ciertas normas, metodologías y protocolos que son necesarios para realizar una correcta asesoría.

Es por esta razón que se requirió que el alumno colaborará con una empresa de Servicios Profesionales, elaborando un manual o protocolo para describir, aplicar y aportar al conocimiento en el área de la Biología Marina. Se detallaron diferentes técnicas tanto de trabajos en terreno, análisis en laboratorio hasta el procesamiento de los datos para entregar la información. Se revisó la metodología y las normativas aplicables a los estudios de la columna de agua, sedimentos y comunidades planctónicas y bentónicas del ambiente marino y se muestran aquí de modo explicativo apoyado de figuras y

diagramas. A su vez, se hizo una completa revisión de los pasos a seguir para la inscripción, acreditación de técnicas de laboratorio necesarias para los estudios en el área de la acuicultura, siguiendo el reglamento ambiental de acuicultura (RAMA) y que puedan ser acreditados en el Instituto de Normalización (INN). De todas estas actividades trata este trabajo de habilitación profesional. De acuerdo al Decreto Exento Nº 01512.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Generar un protocolo operativo para el desempeño del biólogo marino en el área de la consultoría. Y el asesoramiento, a una empresa para sus procesos de inscripción y certificación de calidad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar y utilizar metodología para estudio de comunidades planctónicas.

- Recopilar información y aplicar una metodología que permita la determinación de oxígeno disuelto y coliformes fecales en la columna de agua.

- Aplicar y utilizar las metodologías para estudio de las comunidades bentónicas tanto intermareales y submareales de suelos rocosos y blandos.

- Utilizar y desarrollar técnicas para la determinación de materia orgánica total en sedimentos marinos.

- Recopilar información sobre procesos de inscripción y certificación de calidad de laboratorio para realizar RAMA y sus procesos de acreditación en INN NCh-ISO/iec 17025:2005 (ES).

ESTUDIO DE COMUNIDADES PLANCTÓNICAS

Preparación del programa de muestreo

Es preciso organizar los programas de muestreo con anterioridad tomando en cuenta los objetivos del estudio y los siguientes aspectos (Palma & Kaiser, 1993):

- → Establecer el área de estudio o zona de muestreo
- → Fijar las estaciones de muestreo, tanto su número como su posición geográfica
- → Selección de los instrumentos de muestreo
- → Tipo de muestreo (Cualitativo y/o cuantitativo)
- → Fijar el número de muestras (dependiendo del objetivo de estudio)
- → Determinar los recursos humanos
- → Disponer de recursos financieros necesarios para costear gastos de embarcación, materiales y personal.

Una estrategia para la preparación de un muestreo de organismos planctónicos es tener muy claro los fines y recursos disponibles y los objetivos del estudio, para utilizar en forma eficiente los recursos no eligiendo instrumentos muy sofisticados, sino más bien usar los adecuados que sean de amplio uso y de eficacia comprobada.

Existen variados métodos para la captura de organismos planctónicos. Los más utilizados se nombran a continuación:

Botellas oceanográficas: se utilizan para la colecta de plancton en estudios cuantitativos y se obtiene el volumen exacto de agua junto con el de los organismos que viven en ella, así mismo se determina directamente la relación entre el volumen de agua y el contenido de plancton. Las botellas más utilizadas son la botella NANSEN (figura 1) que es metálica de 1,2 litros de capacidad, soportan grandes presiones y registran la temperatura del agua retenida con un termómetro incorporado, la botella NISKIN (figura 2) es de PVC de 1 a 5 litros de capacidad y posee un portatermómetro giratorio y la botella VAN DORN (figura 3) que es de PVC de capacidad de 5 litros pero carece de termómetro.

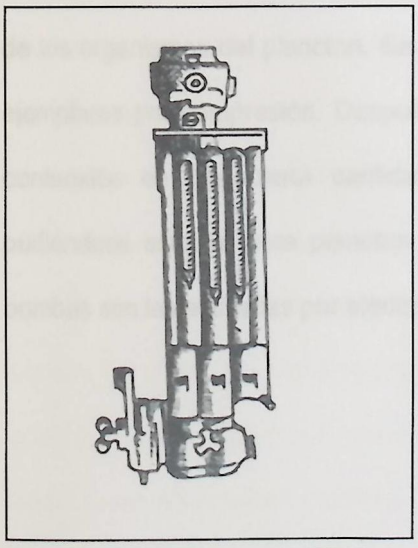


FIGURA 1 BOTELLA NANSEN.
(www.fao.org)

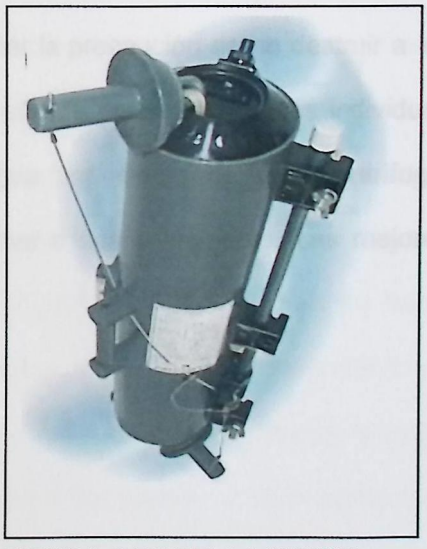


FIGURA 2 BOTELLA NISKIN
(www.fao.org)

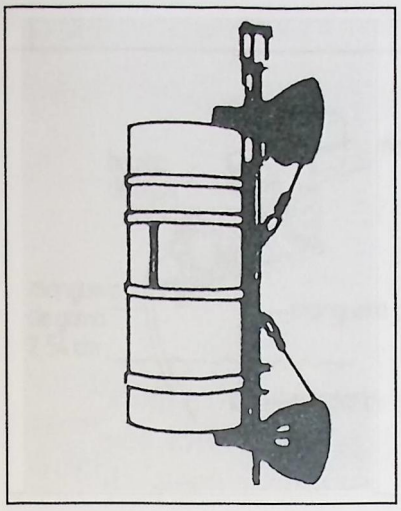


FIGURA 3 BOTELLA VAN DORN
(Palma & Kaiser, 1993)

Bombas de succión: consisten en un tubo que se sumerge a la profundidad deseada y por acción de la bomba se succiona el agua y se filtra una cantidad determinada a través de una tela, quedando retenidos la totalidad o la mayor parte de los organismos del plancton. Se debe tener la precaución de no destruir a los ejemplares por compresión. Después de la colecta se concentran los individuos contenidos en una cierta cantidad de agua por medio de una centrífuga, pudiéndose estudiar este plancton cuantitativa o cualitativamente. Las mejores bombas son las activadas por electricidad.

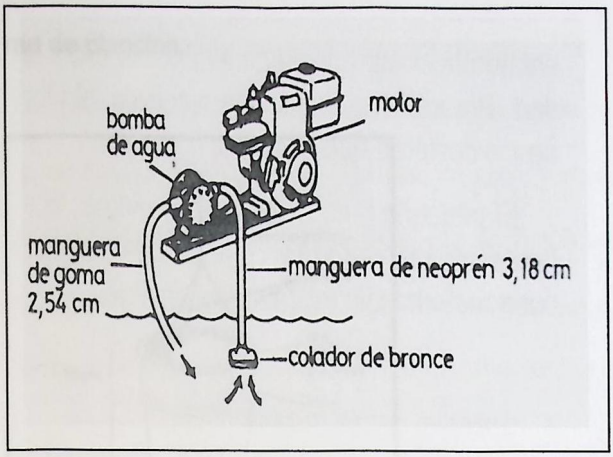


FIGURA 4 BOMBA DE SUCCIÓN (Palma & Kaiser, 1993)

Redes de plancton: funcionan como filtros y son hechas a base de nailon o perlón de diferentes diámetros de poro, dependiendo del tipo de plancton que se requiera, en general, las redes finas no más de 70 µm de luz de malla son utilizadas para capturar fitoplancton y las de mayor diámetro para recoger organismos zooplanctónicos. Las redes están formadas por un cono de tela cuya base se fija en un aro de metal que la va a mantener abierta y en él se sujetan tres cabos que se unen al cabo de arrastre. En su extremo posterior, se encuentra el copo, zona donde se concentra la muestra filtrada. El copo puede ser un bocal formado por un cilindro metálico que se obtura mediante un trozo de tela idéntico a la red y se fija al cilindro por un círculo que es movible o bien, un frasco de vidrio sujeto a una abrazadera metálica. La red se ha ido perfeccionando agregando dispositivos que mejoran el muestreo y en el comercio se puede encontrar una

amplia gama de tamaños y anchos de malla. La figura 5 muestra el modelo de una red de plancton.

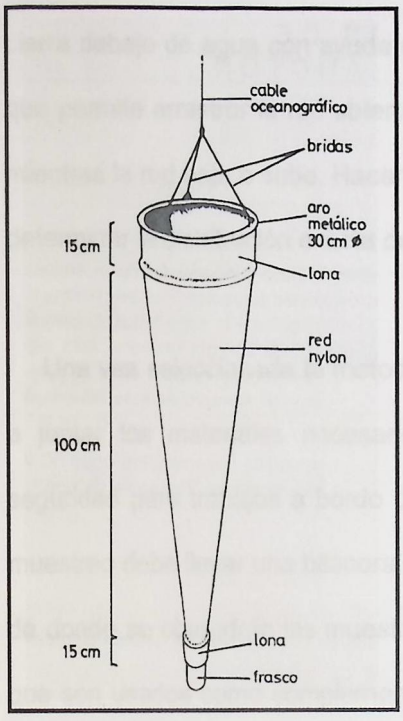


FIGURA 5 RED DE PLANCTON
(Palma & Kaiser, 1993)

La recolección de las muestras con las redes puede hacerse en sentido horizontal o vertical. La colecta en sentido horizontal, se realiza lanzando la red al agua mientras la embarcación avanza lentamente. Unida al cabo de arrastre se cuelga una pesa que obliga a que la red llegue a cierta profundidad, y se mantenga a ese nivel la cual se puede conocer utilizando un clinómetro, éste consiste en un medio círculo graduado que lleva una aguja fina en el centro y marca la inclinación del cable, que indica la profundidad a la que se encuentra la

red. El agua penetra por la abertura de la boca y se escapa por la malla y los organismos filtrados son retenidos en el copo. Por otra parte, si la recolección de plancton se hace en sentido vertical se ideó una red de cierre, que se abre y se cierra debajo de agua con ayuda de un peso hecho de acero llamado mensajero que permite arrastrar la red abierta a la profundidad requerida sin que se mezcle mientras la red baja o sube. Hacer el muestreo en este sentido es importante para determinar la distribución exacta del plancton entre el fondo y la superficie.

Una vez seleccionada la metodología de muestreo que se utilizará se procede a juntar los materiales necesarios para la obtención de las muestras y de seguridad para trabajos a bordo de una embarcación. El profesional a cargo del muestreo debe llevar una bitácora o fórmulario donde se anoten los datos del lugar de donde se obtendrán las muestras así como también sus características físicas que son usados como complemento para la caracterización de la comunidad que se estudiará. La figura 6 muestra un modelo de este fórmulario de muestreo.

ESTACION:	LOCALIDAD:	FECHA:	HORA:
COORDENADAS	DATOS METEOROLOGICOS		
NORTE:	CIELO:	VIENTO:	DIRECCION:
ESTE:	TIPO DE RED:	DIAMETRO:	MALLA:
TEMPERATURA:	OXIGENO:	pH:	SALINIDAD:
ESTRATO DE PESCA:		ANGULO CABLE:	
PROFUNDIDAD DISCO SECCI:		VOLUMEN MUESTRA:	
TIPO DE ARRASTRE:		VELOCIDAD DE NAVEGACIÓN:	
METROS DE CABLE:		RESPONSABLE DE LA PESCA:	

FIGURA 6 FÓRMULARIO PARA MUESTREO DE PLANCTON (Elaboración propia)

Como ya se ha recalcado, el muestreo se debe realizar con materiales adecuados y de eficacia comprobada, es por esta razón que este protocolo se basará en un muestreo con red de plancton y botellas oceanográficas que han sido los métodos más utilizados en el tiempo y que han demostrado muy buenos resultados.

Materiales para el muestreo y análisis de muestras de plancton

En el siguiente listado se nombran los equipos y reactivos necesarios para hacer el muestreo y análisis de muestras de plancton.

A) Equipos

Protección personal

- Botas o vadeadores de pescador
- Guantes de látex
- Chaleco salvavidas (Muestreo desde embarcación)
- Delantal para el trabajo en laboratorio

Recolección de Muestras

- Red de Fitoplancton
- Red de Zooplancton
- Botella oceanográfica de muestreo. (Niskin, Nansen o Van Dorn)
- Frascos plásticos rotulados con la fecha, posición geográfica, estación, profundidad y hora de colecta. (Cantidad dependiente del número de muestras que se quiera tomar)
- Disco secci
- Aparato de localización geográfica (GPS)
- Clinómetro
- Salinómetro

- Oxigenómetro
- Termómetro
- pHmetro
- Lápiz o plumón permanente para rotular las muestras
- Bitácora o fórmulario de muestreo (figura 5)
- Microscopio
- Lupa estereoscópica

B) Reactivos

- Formalina al 5% en proporción 1:10
- Lugol cada 200 ml de muestra

Muestreo de Fitoplancton

Al iniciar un muestreo de comunidades fitoplanctónicas se debe tener claro el objetivo de estudio y definir el tipo de muestreo que se va a realizar. Hay dos tipos de muestreo, uno cualitativo que es el que determina las especies pertenecientes a la comunidad y el muestreo cuantitativo que estima la cantidad de fitoplancteres en un área determinada. Para cada tipo de muestreo la metodología y los materiales son diferentes y se detallan a continuación.

a) Muestreo Cualitativo de Fitoplancton

Este permite determinar la composición del fitoplancton en un área determinada. Los pasos a seguir son los siguientes:

- √ Se deben separar los materiales necesarios para el muestreo cualitativo que son, la red de fitoplancton, frascos rotulados y la formalina al 5% para la preservación de las muestras, además los equipos para medir los parámetros físicos de la columna de agua y se procede a embarcar con las medidas de seguridad correspondientes para los trabajos en el mar.

- √ Luego, se dirige al lugar de muestreo con la ayuda de un GPS.

- √ La colecta de fitoplancton se realiza con la red utilizando arrastres horizontales (o verticales dependiendo del objetivo) a una velocidad baja y en superficie con una duración de 10 a 15 minutos en zonas costeras y 20 a 30 minutos en zonas oceánicas ya que la densidad en estas áreas es distinta.

- √ A su vez, se deben tomar los datos físicos de la columna de agua y de las características meteorológicas al momento del muestreo con la ayuda de equipos que permiten medir salinidad, pH, oxígeno y temperatura y éstos datos son anotados en la bitácora o fórmulario mostrado en la figura 5.

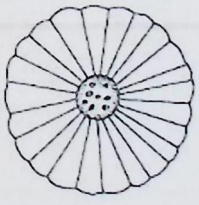
- √ Una vez obtenida la muestra, se extrae desde el copo y es vertida en frascos plásticos codificados con solución de formalina al 5%

- √ Luego, las muestras son llevadas al laboratorio para su análisis e identificación, para lo cual se necesita un microscopio óptico y claves taxonómicas.

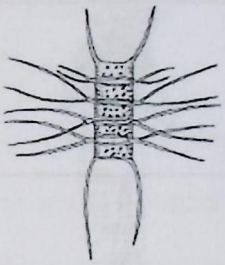
- √ Las especies identificadas son anotadas en un listado que puede ser realizado en el programa EXCEL de manera que éste sea ordenado y claro de modo que permita un fácil manejo de datos.

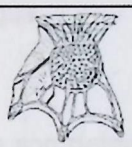
La tabla 1 muestra una clasificación sistemática de algunos ejemplos de géneros de fitoplancton de las aguas en chile.

TABLA 1
EJEMPLOS DE ALGUNOS GÉNEROS DE FITOPLANCTON DE AGUAS CHILENAS (Fuente: Round *et al.*, 1990 y Taylor, 1987)

CLASE	ORDEN	GÉNERO	ESQUEMA
Bacillariophyceae	Thalassiosirales	*Thalassiosira*	
		Skeletonema	
		Planktoniella	

		Detonula	
	Melosirales	*Stephanophyxis*	
	Coscinodiscales	*Coscinodiscus*	
		Eucampia	

	Rhizosoleniales	*Rhizosolenia*	
	Chaetocerotales	*Chaetoceros*	
	Leptocylindrales	*Leptocylindrus*	
		Asterionellopsis	
	Thalassionematales	*Thalassionema*	

Dinophyceae	Prorocentrales	*Prorocentrum*	
	Dinophysiales	*Dinophysis*	
		Ornithocercus	
		Ceratium	
		Alexandrium	
	Peridiniales	*Protoperidinium*	

(***Elaboración propia***)

b) Muestreo Cuantitativo de Fitoplancton

Para la realización de este estudio cuyo objetivo es determinar la concentración de fitoplancton en determinados niveles de profundidad y en un volumen determinado, se deben seguir los siguientes pasos:

- √ Las muestras de fitoplancton son recolectadas mediante botellas oceanográficas ya que toma un volumen exacto de agua.

- √ Se extraen muestras a diferentes profundidades que son determinadas de acuerdo a la penetración de la luz del área de estudio mediante el uso del disco secci sin embargo, hay profundidades estándares de muestreo que son las más utilizadas de acuerdo a lo informado por Palma & Kaiser (1993) que son a 0, 5, 10, 25, y 50 metros.

- √ Una vez recolectadas estas muestras son vertidas en frascos plásticos rotulados y son fijadas con 7 gotas de lugol cada 200 ml de muestra, este reactivo tiene la finalidad de teñir las células de color amarillo intenso para facilitar la observación y conteo al momento de ser analizadas.

Para realizar el recuento de los fitoplancteres hay que tener en cuenta la densidad de organismos de cada muestra obtenida que se puede notar por la

coloración de la muestra luego de teñirlas con lugol. Si la muestra tiene una alta densidad, es decir la muestra tiene un color amarillo muy intenso casi de color café, puede contarse en un volumen relativamente pequeño, ya que se asume que en este volumen hay un número suficiente de células que permite una buena estimación estadística (Venrick, 1978). Este es el caso de cultivos de fitoplancton, zonas costeras o de surgencia o bien una muestra que fue previamente concentrada. Para los casos nombrados se tienen los siguientes métodos:

- Conteo en una alícuota de muestra; consiste en contar células en una alícuota o submuestras de volumen conocido, para este fin se pueden utilizar variados instrumentos como una pipeta Stempel, Eppendorf o similares. Para obtener esta submuestra se debe agitar la muestra original y se extrae la alícuota, ésta es traspasada a un portaobjeto y cubierto con un cubreobjeto para ser observado en un microscopio para su conteo.

- Conteo utilizando cámaras; consiste en utilizar cámaras de conteo y que se nombran a continuación:

Cámara Palmer- Maloney (Figura 7) consiste en una cámara de vidrio circular de 17.9 mm de diámetro y 0.4 mm de profundidad con una capacidad de 0.1 ml de muestra. Esta cámara es útil para realizar conteos de células microplantónicas así

como también nanoplactónicas. La cámara se llena por una de las 2 ranuras que posee en su parte media y luego se cubre con un cubreobjeto (Alveal, 1995).

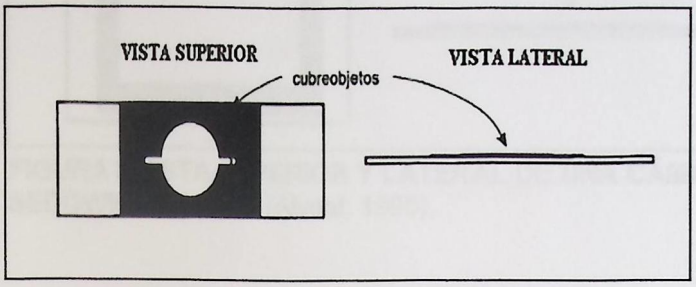


FIGURA 7 VISTA SUPERIOR Y LATERAL DE UNA CÁMARA PALMER- MALONEY (Alveal, 1995).

Cámara Sedgwick-Rafter (Figura 8) esta cámara tiene la capacidad para contener 1 ml de muestra y mide 50 mm por 20 mm de lado y 1 mm de profundidad. Es apta para conteos de células relativamente grandes, ya que el alto de la cámara no permite realizar observaciones con gran aumento (no más de 200 x). Para llenar la cámara se recomienda poner el cubreobjeto en forma diagonal y colocar la muestra por el espacio libre que queda entre éste y el portaobjeto, de esta manera se evite la formación de burbujas que son una gran fuente de error al medir el volumen de la muestra (Alveal, 1995).

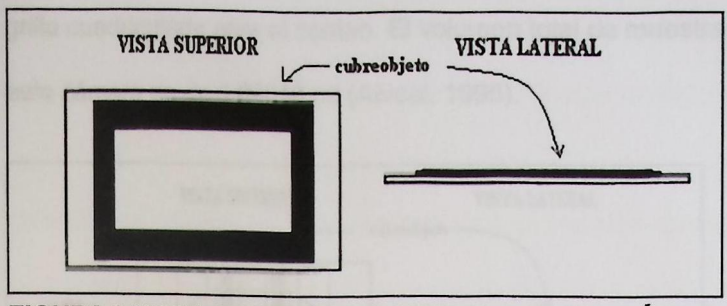


FIGURA 8 VISTA SUPERIOR Y LATERAL DE UNA CÁMARA SEDGWICK-RAFTER (Alveal, 1995).

Hemocitómetro (Figura 9) tiene 0.2 mm de profundidad y posee una grilla que consiste en 16 cuadrados, cada uno de 1 mm de lado, que están a su vez subdivididos en 16 cuadrados de 250 µm de lado cada uno. Con una pipeta se procede a colocar la muestra en la cámara a través de la ranura tratando que se distribuya en forma uniforme sin dejar espacios de aire (Alveal, 1995).

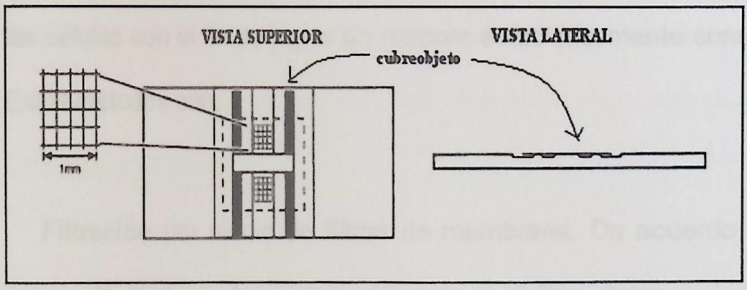


FIGURA 9 VISTA SUPERIOR Y LATERAL DE UN HEMOCITÓMETRO (Alveal, 1995)

Cámara Petroff- Hausser (Figura 10) esta cámara es utilizada normalmente para recuento de células sanguíneas y su uso no es frecuente en trabajos de planctología, sin embargo, puede utilizarse si se tiene un cultivo denso de organismos planctónicos pequeños. Tiene 0.02 mm de profundidad y posee una

grilla cuadriculada para el conteo. El volumen total de muestra que puede contener esta cámara es de 0.00018 ml (Alveal, 1995).

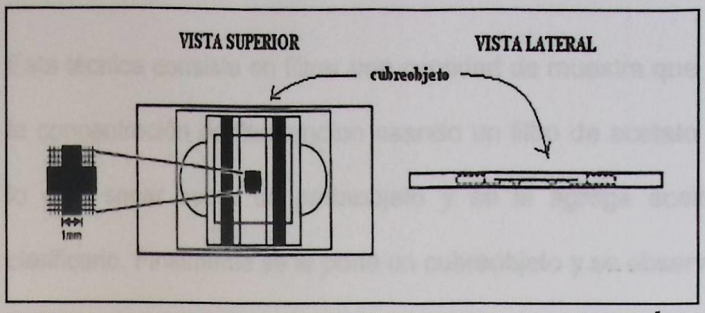


FIGURA 10 VISTA SUPERIOR Y LATERAL DE UNA CÁMARA PETROFF-HAUSER (Alveal, 1995).

Por otra parte, si la muestra tiene una baja densidad de células fitoplanctónicas, es decir que la coloración de la muestra es un amarillo más tenue, es necesario realizar un método que permita aumentar la concentración de las células con el fin de lograr un número estadísticamente considerable a censar. Estos métodos son:

Filtración por medio de filtros de membrana. De acuerdo a Fournier (1978) éste método tiene la ventaja de que posibilita observar los organismos con aumentos relativamente altos y que permiten analizar un rango específico en el tamaño de células, debido a que existe una gran variedad de tamaño de poro de los filtros. La observación puede hacerse directamente sobre los filtros (Booth, 1987) o bien, con un posterior traspaso de éste a un medio de glicerina (Geider, 1987). Sin embargo, tiene la desventaja de que no se pueden manipular las

células y además, por efecto de la misma filtración, puede haber dificultad en la identificación de algunos fitoplancteres por sufrir alguna distorsión.

Esta técnica consiste en filtrar una cantidad de muestra que varía dependiendo de la concentración de fitoplancton usando un filtro de acetato de celulosa; luego se lo deja secar sobre un portaobjeto y se le agrega aceite de inmersión para clarificarlo. Finalmente se le pone un cubreobjeto y se observa en un microscopio.

Centrifugación donde se coloca una muestra de volumen conocido, en una centrífuga de laboratorio y por 20 minutos, se centrifuga a 1000 revoluciones por minutos aproximadamente. Esta velocidad debe ser importante controlarla ya que si se realiza muy rápido puede provocar que las células se rompan. Una vez centrifugada la muestra, se saca el sobrenadante con cuidado hasta llegar a un volumen concentrado de muestra que va a variar dependiendo de instrumento de conteo que se utilizará.

Sedimentación el más conocido es el método descrito por Utermöhl (1958). Consiste en hacer sedimentar una muestra en un cilindro de sedimentación (figura 11) de manera tal que después de un cierto tiempo (no menos de 24 horas) se puede asumir que todos los organismos presentes en la muestra se encuentran en la base de la cámara de sedimentación.

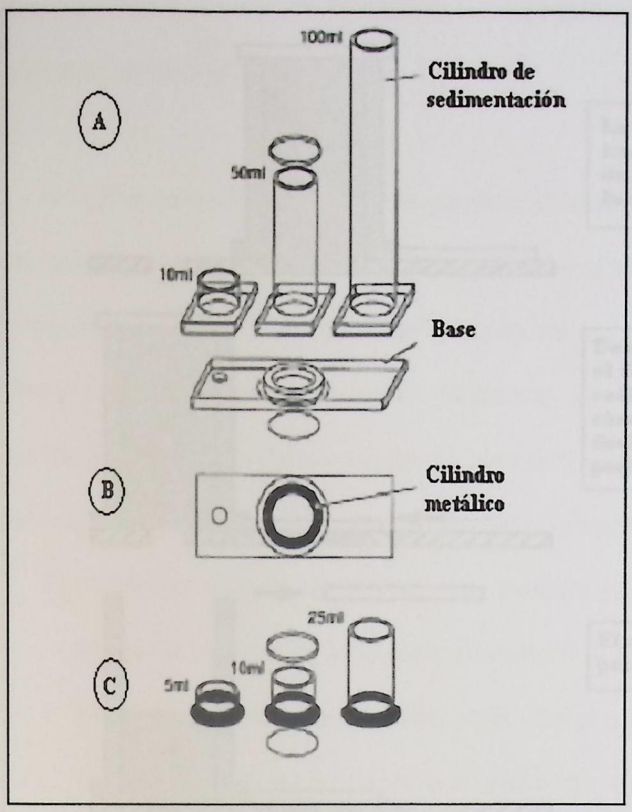


FIGURA 11 A) CILINDROS DE SEDIMENTACION PARA MUESTRAS DE FITOPLANCTON. B) BASE O CÁMARA DE SEDIMENTACION. C) SISTEMA FIJO DE CILINDRO Y BASE PARA USO DE MICROSCOPIO INVERTIDO (Alveal, 1995)

Luego, el cilindro es separado de la cámara quedando una altura menor que la distancia focal del condensador, con lo que es posible observar a los organismos mediante un microscopio invertido. Este procedimiento se muestra en la figura 12.

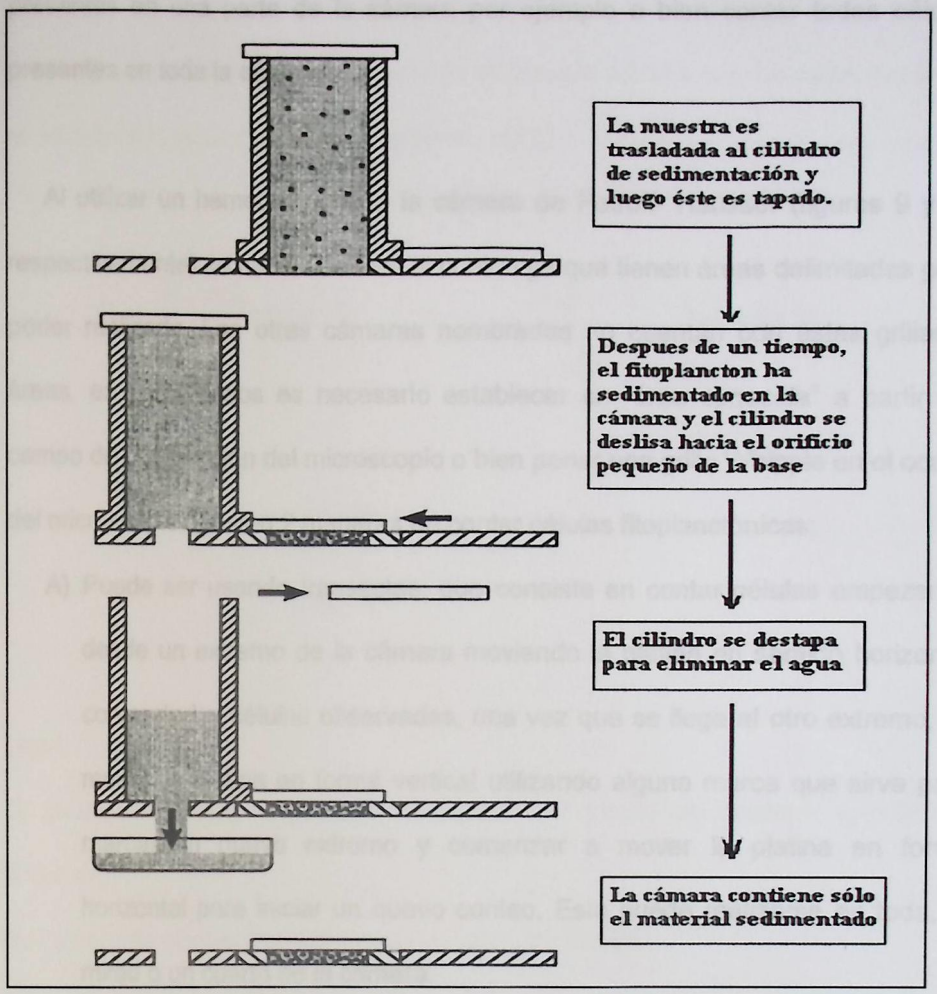


FIGURA 12 PROCEDIMIENTO DE SEDIMENTACION DE LAS MUESTRAS DE FITOPLANCTON (Alveal, 1995).

Una vez establecido el mecanismo de conteo se procede a contar las células contenidas en las muestras. Para llevar a cabo este procedimiento, el profesional a cargo debe tener claro el tiempo con que cuenta para realizar el censo, con ésta referencia se puede optar por diferentes mecanismos como contar los organismos

presentes en una parte de la cámara por ejemplo o bien contar todas células presentes en toda la cámara.

Al utilizar un hemocitómetro o la cámara de Petroff- Hausser (figuras 9 y 10 respectivamente) se hace más fácil el conteo ya que tienen áreas delimitadas para poder realizarlo. Las otras cámaras nombradas no cuentan con éstas grillas o áreas, en estos casos es necesario establecer un "área conocida" a partir del campo de observación del microscopio o bien poner una grilla Whipple en el ocular del microscopio. Existen 2 maneras de contar células fitoplanctónicas:

A) Puede ser usando transectas, que consiste en contar células empezando desde un extremo de la cámara moviendo la platina en sentido horizontal contando las células observadas, una vez que se llega al otro extremo, se mueve la platina en forma vertical utilizando alguna marca que sirva para marcar un nuevo extremo y comenzar a mover la platina en forma horizontal para iniciar un nuevo conteo. Esto puede realizarse en toda, la mitad o un cuarto de la cámara.

B) La otra manera de contar células fitoplanctónicas es por campos contados utilizando la grilla Wipple puesta en el ocular del microscopio, para esto se selecciona al azar el campo que será censado que puede ser por medio del establecimiento de coordenadas en la platina del microscopio y luego se procede a contar las células observadas en la grilla.

Luego, es necesario hacer el cálculo de la concentración de células contabilizadas. Para realizar este cálculo se toma la planilla con los datos crudos y se introduce la siguiente ecuación (Alveal, 1995):

$$C = \frac{N}{V(b)} \quad \textbf{(Ecuación 1)} \qquad V(b) = \frac{A(b) * V}{A(t)} \quad \textbf{(Ecuación 2)}$$

Por lo que:

$$C = \frac{N * A(t)}{A(b) * V} \quad \textbf{(Ecuación 3)}$$

Donde:

C: es la concentración expresada en células por unidad de volumen^{-1} (puede ser litro o ml)

N: número de células contadas en el volumen de barrido.

V(b): volumen de barrido o submuestra observada expresada en ml o litros.

A (b): área barrida o área contabilizada que va a depender del área de campo contabilizado que depende a su vez del objetivo de cada microscopio o lupa utilizada.

V: Volumen de la muestra (1 ml por ejemplo en una cámara de Sedgwick-Rafter)

A (t): área total de la cámara de muestreo

Por ejemplo, si se utiliza una cámara Sedwick-Rafter como método de conteo, se tiene un área total (A(t)) de 50 mm * 20mm = 1000 mm^2; un volumen de la muestra (V) de 1ml; un área de barrido (área contabilizada) de 0.49 mm^2 y sí se contabilizan 3 células en dicha área, se tiene una concentración de cel/ml a:

$$\mathbf{C\ (cel/ml)} = \frac{N * A(t)}{A(b) * V} = \frac{3 * 1000\ mm^2}{0.49\ mm^2 * 1\ ml} = 6122.44\ cel/ml$$

Ahora bien, el volumen de 1 ml es el de cada submuestra, por lo tanto se debe calcular la concentración de células en el volumen total de la muestra, es decir, la obtenida con la botella. Esta concentración es calculada mediante la siguiente ecuación:

$$C = \frac{\frac{(N * V(f))}{V(s)}}{V(t)} \quad \textbf{(Ecuación 4)}$$

Donde:

C : Concentración de fitoplancton en la muestra expresada en cel por unidad de volumen

N : Número de células calculadas en la submuestras

V(f) : Volumen del frasco donde se guardo la muestra

V(s) : Volumen de la submuestras

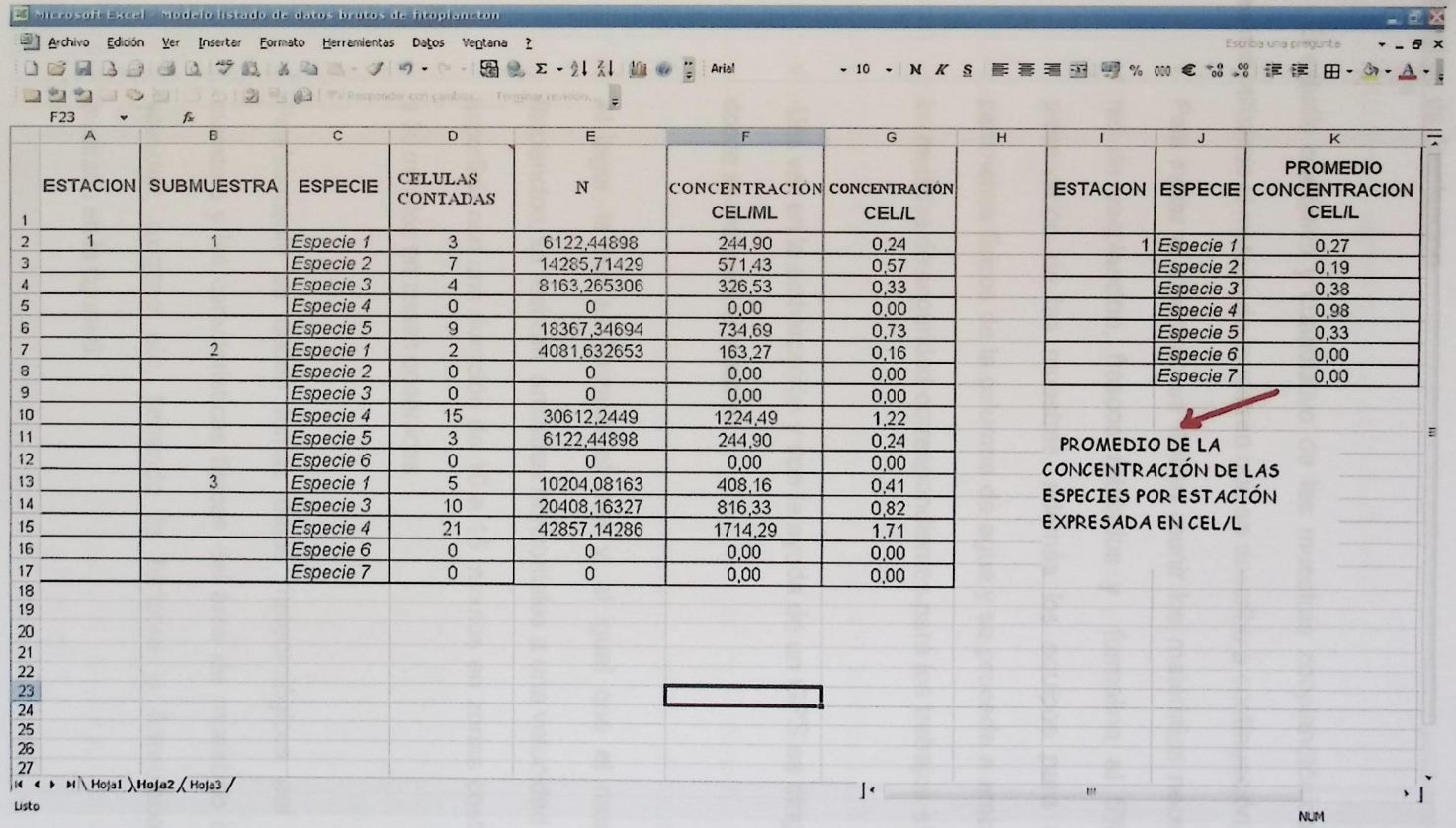
V(t) : Volumen total de la muestra, es decir volumen de la botella oceanográfica

Por lo tanto, si el volumen de los frascos donde se guarda una muestra es de 200 ml y la botella oceanográfica recolecta un total de 5 litros. Reemplazando en la ecuación número 4:

$$C\ (cel/ml) = \frac{\frac{(6122.44\ cel/ml * 200\ ml)}{1\ ml}}{5000\ ml} = 244.9\ cel/ml$$

Luego de este procedimiento, se obtiene un promedio de cada especie por separado de cada estación de muestreo.

Para poder presentar el resultado en un informe final, usando una planilla Excel con los datos cualitativos se añade la columna con la abundancia insertando las ecuaciones antes explicadas. Con estos resultados se procede a hacer el análisis estadístico de las comunidades fitoplanctónicas. La figura 13 muestra un modelo de ordenación del recuento cualitativo y cuantitativo.



Microsoft Excel - Modelo listado de datos brutos de fitoplancton

Archivo Edición Ver Insertar Formato Herramientas Datos Ventana ?

F23

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	ESTACION	SUBMUESTRA	ESPECIE	CELULAS CONTADAS	N	CONCENTRACIÓN CEL/ML	CONCENTRACIÓN CEL/L		ESTACION	ESPECIE	PROMEDIO CONCENTRACION CEL/L
2	1	1	*Especie 1*	3	6122,44898	244,90	0,24		1	*Especie 1*	0,27
3			*Especie 2*	7	14285,71429	571,43	0,57			*Especie 2*	0,19
4			*Especie 3*	4	8163,265306	326,53	0,33			*Especie 3*	0,38
5			*Especie 4*	0	0	0,00	0,00			*Especie 4*	0,98
6			*Especie 5*	9	18367,34694	734,69	0,73			*Especie 5*	0,33
7		2	*Especie 1*	2	4081,632653	163,27	0,16			*Especie 6*	0,00
8			*Especie 2*	0	0	0,00	0,00			*Especie 7*	0,00
9			*Especie 3*	0	0	0,00	0,00				
10			*Especie 4*	15	30612,2449	1224,49	1,22				
11			*Especie 5*	3	6122,44898	244,90	0,24				
12			*Especie 6*	0	0	0,00	0,00				
13		3	*Especie 1*	5	10204,08163	408,16	0,41				
14			*Especie 3*	10	20408,16327	816,33	0,82				
15			*Especie 4*	21	42857,14286	1714,29	1,71				
16			*Especie 6*	0	0	0,00	0,00				
17			*Especie 7*	0	0	0,00	0,00				

PROMEDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE LAS ESPECIES POR ESTACIÓN EXPRESADA EN CEL/L

Hoja1 Hoja2 Hoja3

Listo

NUM

FIGURA 13 PLANILLA MODELO DE ORDENACION DE DATOS CRUDOS DE LOS RESULTADOS DEL RECUENTO CUALITATIVO Y CUANTITATIVO DE LAS MUESTRAS DE FITOPLANCTON (Elaboración propia).

Muestreo de Zooplancton

El estudio cualitativo y cuantitativo de las muestras zooplanctónicas pueden realizar utilizando el método de muestreo que se describe a continuación:

- √ Para iniciar el muestreo se deben reunir los materiales necesarios, la red de zooplancton, frascos rotulados y formalina al 5% para la preservación de las muestras, además los equipos para medir los parámetros físicos de la columna de agua y se procede a embarcar con las medidas de seguridad correspondientes para los trabajos en el mar.

- √ Una vez en la embarcación y con la ayuda de un GPS se dirige al lugar donde se extraerá la muestra.

- √ Al llegar, la red es lanzada al mar y, al igual que el muestreo de fitoplancton, se realizan arrastres horizontales a una velocidad baja y en superficie con una duración de 10 a 15 minutos en zonas costeras y 20 a 30 minutos en zonas oceánicas.

- √ Paralelamente se deben tomas datos meteorológicos del lugar de muestreo y las características físicas del área de muestreo como pH, salinidad, oxígeno etc, llenando la bitácora o formulario modelo mostrado en la figura 6.

- √ Al finalizar el arrastre se lavan las paredes de la red para concentrar el plancton recolectado en el copo de la red.

- √ La muestra contenida en el copo es vertida en frascos rotulados y se fija la muestra con solución de formalina al 10%. Los frascos son guardados y llevados al laboratorio para su análisis.

Para realizar el análisis de las muestras es necesario trabajar con fracciones de la muestra original debido al tiempo que tarde la cuantificación y clasificación de los organismos recolectados, teniendo presente que este análisis puede arrastrar errores debido a la extrapolación de los datos. Es necesario emplear un método que permita analizar una fracción representativa del total de la muestra que sea lo mas precisa y no lleve a cometer errores significativos en la estimación de los resultados, para ello hay submuestreadores como los que se muestran a continuación:



FIGURA 14 PIPETA STEMPEL
(www.fao.org)

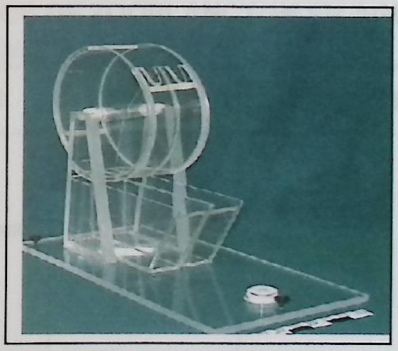


FIGURA 15 SEPARADOR FOLSOM
(www.fao.org)

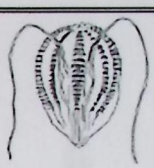
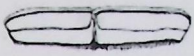
Al utilizar alguno de estos submuestreadores se debe tener claro que los ejemplares mayores a 2 cm antes de subdividir la muestra y analizarlos por separado, los organismos restantes se deben dividir al azar sin efectuar ninguna selección adicional. Además, la separación de la muestras debe ser realizada cuidadosamente para evitar el deterioro de organismos. Estos resultados serán más exactos mientras mayor densidad de organismos tenga la muestra destacando que los resultados serán más precisos cuando se analiza la totalidad de la muestra.

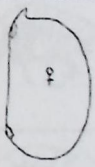
Para el análisis cualitativo, las submuestras se colocan en una cápsula de Petri o una cámara como la de Sedgwick-Rafter y se observan bajo una lupa estereoscópica. Para la identificación de las especies observadas se utilizan claves taxonómicas. La tabla 2 muestra de la clasificación de algunos géneros de zooplancton de aguas chilenas de acuerdo a los trabajos de Bougis (1976).

TABLA 2
EJEMPLO DE LOS PRINCIPALES GENEROS DE ZOOPLANCTON EN AGUAS CHILENAS (Fuente: Palma y Kaiser, 1992)

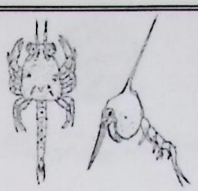
PHYLUM	CLASE/ SUBCLASE	ORDEN	GENERO	ESQUEMA
Cnidaria	Hydrozoa	Anthomedusae	*Euphysa*	

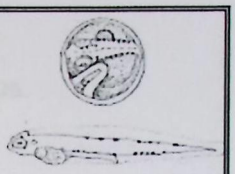
			Bougainvillia	
			Leuckartiara	
			Sarsia	
		Trachymedusae	*Aglaura*	
			Rhopalonema	
		Narcomedusae	*Cunina*	
			Muggiaea	

Ctenophora	Tentaculata	Cydippida	*Pleurobrachia*	
		Cestida	*Cestus*	
	Nuda	Beroida	*Beroe*	
			Cavolinia	
			Limacina	
		Heteropoda	*Atlanta*	
			Pterotrachea	

Chaetognatha	-------	------	*Sagitta*	
Arthopoda	Entomostraca/ Branchipoda	Cladocera	*Penilia*	
			Evadne	
			Podon	
	Ostracoda	-------	*Conchoecia*	
			Halocypris	

	Copepoda	Calanoida	*Acartia*	
			Calanus	
			Centropages	
		Cyclopoida	*Coryceus*	
		Amphipoda	*Hyperia*	
			Vibilia	
	Eucarida	Euphausiacea	*Euphausia*	

		Decapoda	*Larvas de decapodos*	
		Salpida	*Pegea*	
			Salpa	
			Thalia	
	Appendicularia	------	*Oikopleura*	
			Fritillaria	

Vertebrata	Pisces	-----	*Huevos y larvas de peces*	

Para el análisis cuantitativo se puede utilizar cámaras como la de Sedgwick-Rafter de 5 ml o bien la misma cápsula Petri con el volumen conocido obtenido con el submuestreador. Luego, bajo una lupa o microscopio, se procede a contar los organismos zooplanctónicos utilizando la metodología de transectas que consiste en contar a los organismos barriendo en sentido horizontal y vertical.

Para el caso del zooplancton, es necesario determinar el volumen filtrado por la red para este efecto se utiliza un flujómetro que es instalado en la boca de la red o bien, para las pescas verticales, se puede estimar teóricamente midiendo el ángulo del cable calado de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$V = \pi * r^2 * h \quad \text{(Ecuación 5)} \qquad h = z * \cos a \quad \text{(Ecuación 6)}$$

Por lo que:

$$V = \pi * r^2 * (z * \cos a) \quad \text{(Ecuación 7)}$$

Donde:

V: Volumen de agua filtrada que puede ser expresado en ml o litros.

r: radio de la boca de la red o aro metálico expresado en metros

h: profundidad de la pesca en metros

z: longitud del cable utilizada en la pesca en metros

a: ángulo del cable que se determina con un clinómetro.

Por otra parte, para realizar el conteo es necesario separar las muestras mediante submuestreadores y esta submuestras se analiza mediante una cámara de conteo como la cámara de Sedgwick-Rafter de capacidad 5 ml. La submuestras es vaciada a esta cámara y se analiza bajo la lupa haciendo un barrido de transectas. Los organismos identificados y contados son anotados y llevados a una lista realizada en una planilla Excel.

Luego es necesario calcular la concentración total de zooplancton de la muestra y para esto se debe utilizar la siguiente ecuación:

$$C = \frac{\frac{(N * V(f))}{V(s)}}{V(t)} \quad \textbf{(Ecuación 8)}$$

Donde:

C : Concentración de zooplancton en la muestra expresada en individuos por unidad de volumen

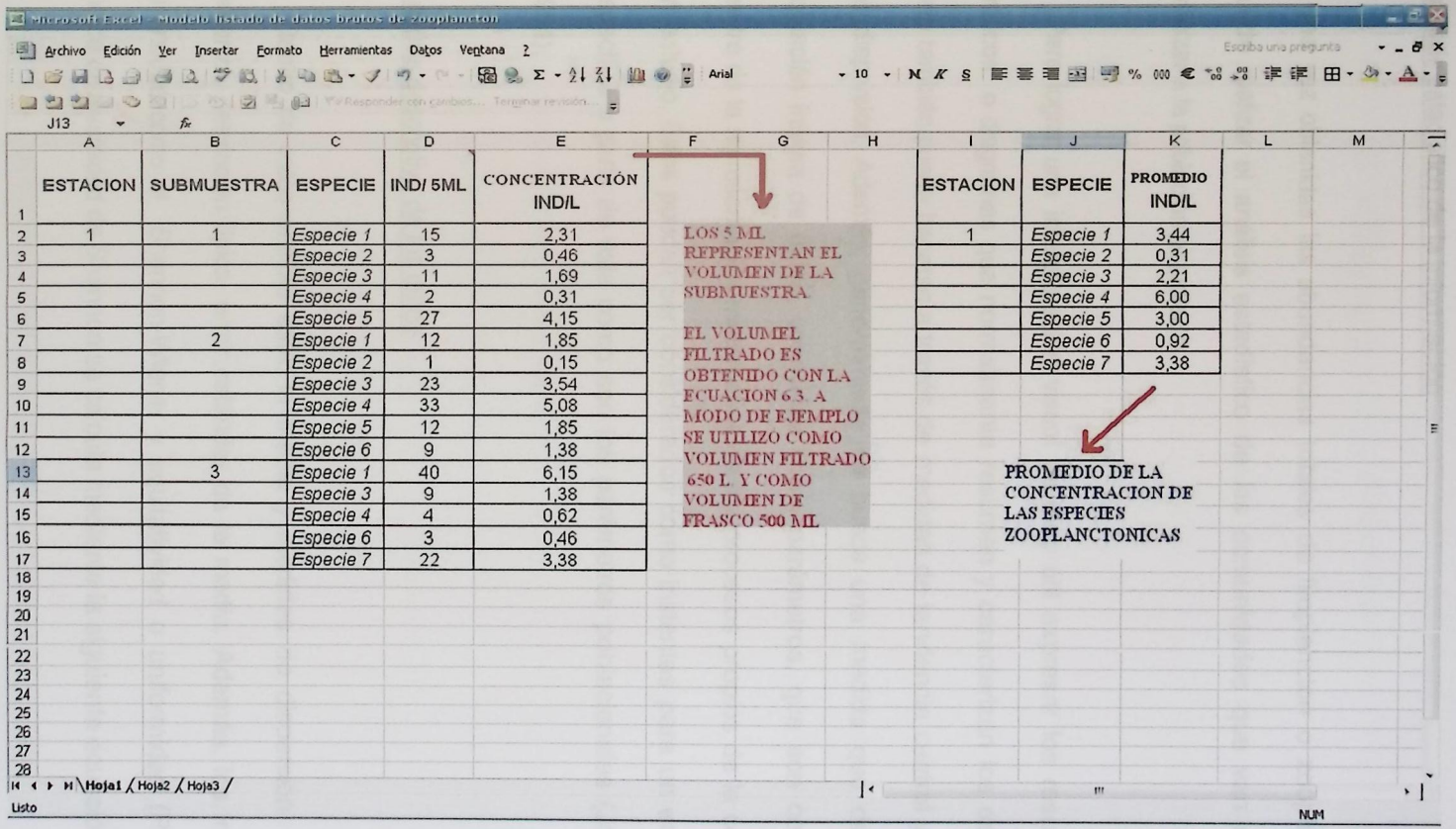
N : Número de organismos en la submuestras

V(f) : Volumen del frasco donde se guardo la muestra

V(s) : Volumen de la submuestras

V(t) : Volumen total de la muestra, es decir volumen filtrado calculado con la fórmula antes mostrada.

Los resultados obtenidos deben ser traspasados a una planilla hecha en un programa Excel, para su posterior análisis estadístico para cada estación se debe calcular el promedio de cada especie encontrada. La figura 16 muestra un modelo de expresión de los datos obtenidos de la observación de las muestras de zooplancton.



	ESTACION	SUBMUESTRA	ESPECIE	IND/ 5ML	CONCENTRACIÓN IND/L
2	1	1	*Especie 1*	15	2,31
3			*Especie 2*	3	0,46
4			*Especie 3*	11	1,69
5			*Especie 4*	2	0,31
6			*Especie 5*	27	4,15
7		2	*Especie 1*	12	1,85
8			*Especie 2*	1	0,15
9			*Especie 3*	23	3,54
10			*Especie 4*	33	5,08
11			*Especie 5*	12	1,85
12			*Especie 6*	9	1,38
13		3	*Especie 1*	40	6,15
14			*Especie 3*	9	1,38
15			*Especie 4*	4	0,62
16			*Especie 6*	3	0,46
17			*Especie 7*	22	3,38

LOS 5 ML REPRESENTAN EL VOLUMEN DE LA SUBMUESTRA

EL VOLUMEL FILTRADO ES OBTENIDO CON LA ECUACION 6.3. A MODO DE EJEMPLO SE UTILIZO COMO VOLUMEN FILTRADO 650 L Y COMO VOLUMEN DE FRASCO 500 ML

ESTACION	ESPECIE	PROMEDIO IND/L
1	*Especie 1*	3,44
	Especie 2	0,31
	Especie 3	2,21
	Especie 4	6,00
	Especie 5	3,00
	Especie 6	0,92
	Especie 7	3,38

PROMEDIO DE LA CONCENTRACION DE LAS ESPECIES ZOOPLANCTONICAS

FIGURA 16 PLANILLA MODELO PARA EXPRESAR LOS DATOS CRUDOS DE LAS MUESTRAS DE ZOOPLANCTON OBSERVADAS (Elaboración propia)

Análisis estadístico de la información

Una vez obtenidas las abundancias totales de fitoplancton o zooplancton se puede realizar el análisis estadístico de las comunidades que van a permitir analizar a la población estudiada.

Para lograr una interpretación visual es muy útil expresar los resultados en gráficos o diagramas que normalmente resumen y caracterizan los datos, pero esto también puede hacerse a través de medidas de tendencia central y medidas de dispersión. Además, generalmente se busca una medida que describa la población íntegra de datos, conocidas como parámetros, que son coeficientes dentro de la representación matemática de los procesos propios de la comunidad en estudio. Estos pueden ser considerados como instantes para un ecosistema específico o parte de éste como son los parámetros poblacionales (Jorgensen, 1994).

Análisis descriptivo de los datos

Dentro de estos análisis está: la media y medidas de dispersión como la varianza, desviación típica, error estándar de la media. Además, los índices de diversidad como el Shannon-Wiener y equitatividad o uniformidad (Pielou). El índice de diversidad de Shannon se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$H' = \Sigma\, p_i \log p_i \qquad \text{(Ecuación 9)}$$

Donde p_i es la proporción de la especie i en la muestra y N es el número total de especies o bien

$$p_i = \frac{n_i}{N} \qquad \text{(Ecuación 10)}$$

Este índice varía sus valores desde 0, o nula diversidad, hasta el infinito. A partir de valores mayores a 2 bits se puede hablar de una comunidad con una buena diversidad.

La Uniformidad (J´) que representa la dominancia de una especie sobre el total en una muestra requiere que se estime la diversidad máxima teórica de la muestra, mediante la siguiente ecuación:

$$H'\,max = Ln\ k \qquad \text{(Ecuación 11)}$$

Donde k es el número de categorías o especies. Una vez establecido el valor de H´max se puede estimar el índice de uniformidad con la siguiente ecuación:

$$J' = \frac{H'}{H'\,max} \qquad \text{(Ecuación 12)}$$

Los valores de uniformidad tienen un rango entre 0 y 1. Si los valores son cercanos a 1 quiere decir que hay una especie que domina sobre las otras.

Para ver si los datos siguen o no una distribución normal tests de normalidad (ej. Shapiro-Wilk para esto es necesario tener claro en el test cuáles son las hipótesis nula (H_0) y la hipótesis alternativa (H_1). Para esto, H_0 asume que los datos tienen una distribución normal y H_1 no lo son. Para realizar estos test es necesario utilizar programas estadísticos como Xstat, Systat o bien programas de análisis ecológico como el PRIMER, Biodiversity Pro, Past, etc. El rechazo o aceptación de la hipótesis nula va a depender del resultado de p-value, es decir, si la probabilidad de cumplirse H_0 es mínima, esto es $p \leq 0,05$, se rechaza y se acepta H_1 (o sea, se asume que los datos no son normales).

Estadística univariante

Tests de comparación de medias, tanto paramétricos (cuando los datos siguen una distribución normal) por ejemplo un ANOVA, como no paramétricos (si no siguen una distribución normal) como el Kruskal Wallis.

Estadística multivariante

Dentro los métodos multivariados esta el análisis de clasificación (clusters o dendrogramas) como el de Bray-Curtis. También el análisis de ordenación, como el método de escalamiento no métrico o NMDS.

Todos estos análisis van a entregar una visión general de la comunidad que se está estudiando, y poder concluir con mayor precisión sobre esta.

DETERMINACION DE OXIGENO DISUELTO EN LA COLUMNA DE AGUA

Preparación del programa de muestreo

El muestreo de agua para determinar el de oxígeno disuelto se basa en lo publicado en la resolución exenta N° 3411 donde se fijan las metodologías para realizar estudios acuáticos.

Para preparar el muestreo se debe tener clara el área de estudio y con la ayuda de los materiales y equipos necesarios para éste fin se procede realizar trabajos sobre una embarcación.

Materiales para la determinación del oxígeno disuelto en la columna de agua

Para la obtención de muestras de la columna de agua y determinar el oxígeno disuelto contenido en ella se necesitan los equipos que se listan a continuación.

Protección personal

- Botas o vadeadores de pescador
- Chaleco salvavidas (Muestreo desde embarcación)

Equipos

- CTD o equipo multiparámetro o bien oxigenómetro con una precisión mínima de 0.1 mg/l
- Botella oceanográfica (si es que se utiliza un oxigenómetro)

Metodología y manejo de muestras para la determinación de oxígeno disuelto

La determinación de oxígeno se realiza *in situ* con equipos de medición que se nombran a continuación:

CTD: Instrumento utilizado para medir variables físicas de la columna de agua. A medida que el instrumento CTD es sumergido en el agua, (o a medida que se mantiene a un mismo nivel), las mediciones de conductividad, temperatura, profundidad son registradas continuamente. La figura 17 muestra un modelo de un CTD. Al conectar el equipo al computador se puede extraer toda la información del oxigeno disuelto en mg/l registrado en la columna de agua.

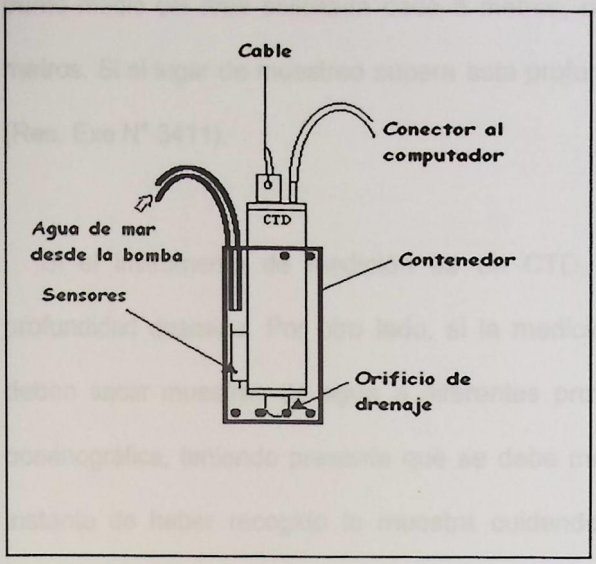


FIGURA 17 MODELO DE UN CTD (www.fao.org)

Oxigenómetro: es un electrodo que mide la cantidad de oxígeno disuelto en una muestra de agua. Es muy utilizado y en el mercado se pueden encontrar una gran variedad de ellos. La figura 18 muestra un modelo de un oxigenómetro que es ofrecido en el mercado.

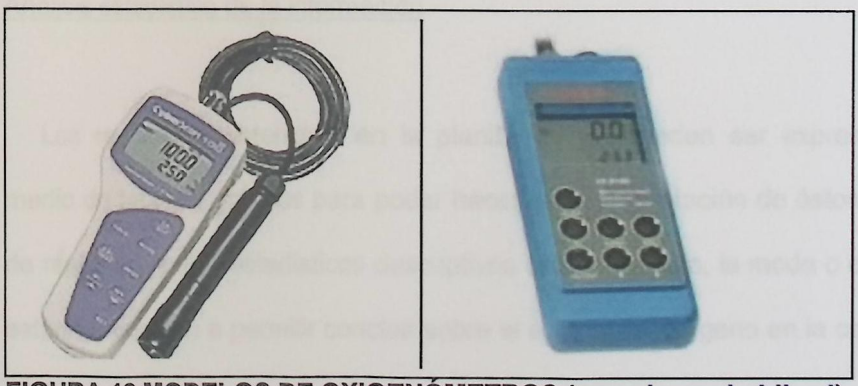


FIGURA 18 MODELOS DE OXIGENÓMETROS (www.hannahchile.cl)

La medición, cualquiera sea el equipo que se utilice, se debe realizar en el punto medio del área solicitada cada 5 metros, desde la superficie hasta los 30 metros. Si el lugar de muestreo supera esta profundidad, se mide cada 10 metros (Res. Exe N° 3411).

Si el instrumento de medición es un CTD, la medición es directa en la profundidad deseada. Por otro lado, si la medición es con un oxigenómetro se deben sacar muestras de agua a diferentes profundidades usando una botella oceanográfica, teniendo presente que se debe medir el oxígeno con la sonda al instante de haber recogido la muestra cuidando no agitarla y no provocar la generación de burbujas ya que distorsionan el resultado. Es importante destacar que cada vez que se realice una medición se debe calibrar el equipo para garantizar una medición confiable. Los resultados obtenidos expresados en mg/l deben ser traspasados a una planilla Excel para cuidar el orden de la información y poder realizar el análisis de éstos.

Análisis estadístico de la información

Los resultados obtenidos, en la planilla Excel, pueden ser expresados por medio de tablas y gráficos para poder hacer una interpretación de éstos. Además de realizar cálculos estadísticos descriptivos como la media, la moda o desviación estándar que van a permitir concluir sobre el estado del oxígeno en la columna de agua.

Los gráficos de oxígeno disuelto son realizados como un perfil vertical de acuerdo a la cantidad de oxigeno en la columna de agua versus la profundidad. La figura 19 muestra un ejemplo de un perfil de oxígeno.

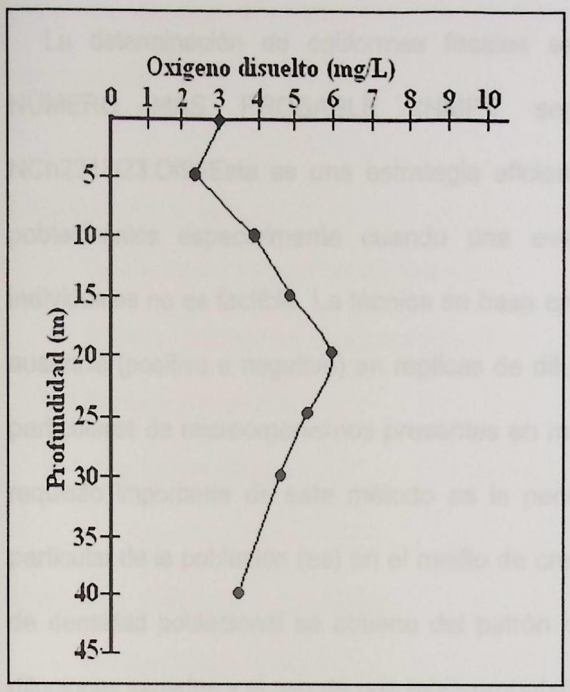


FIGURA 19 PERFIL VERTICAL DE OXÍGENO DISUELTO EN LA COLUMNA DE AGUA (Elaboración propia).

DETERMINACION DE COLIFORMES FECALES EN LA COLUMNA DE AGUA

Preparación del programa de muestreo

La determinación de coliformes fecales se hará con la metodología del NÚMERO MAS PROBABLE (NMP), según la la Norma Chilena NCh2313/23.Of95Esta es una estrategia eficiente de estimación de densidades poblacionales especialmente cuando una evaluación cuantitativa de células individuales no es factible. La técnica se basa en la determinación de presencia o ausencia (positivo o negativo) en réplicas de diluciones consecutivas de atributos particulares de microorganismos presentes en muestras de agua. Por lo tanto, un requisito importante de este método es la necesidad de reconocer un atributo particular de la población (es) en el medio de crecimiento a utilizarse. El estimado de densidad poblacional se obtiene del patrón de ocurrencia de ese atributo en diluciones seriadas y el uso de una tabla probabilística.

Para la preparación del muestreo se debe establecer el área de estudio donde se fijarán las estaciones de muestreo y las profundidades a las que se obtendrán las muestras de agua. Luego, se deben separar los materiales de muestreo y de seguridad para los trabajos realizados en el mar.

Materiales para la determinación de coliformes fecales en la columna de agua

Para obtener las muestras de agua y poder determinar la cantidad de coliformes fecales se necesitan los equipos y reactivos que se listan a continuación.

Protección personal

- Delantal para trabajo en laboratorio
- Botas o vadeadores de pescador
- Chaleco salvavidas
- Guantes de látex

Muestreo y Trabajo en Laboratorio

- Botella Oceanográfica
- Frascos de vidrio estériles rotulados (cantidad dependiendo de la cantidad de muestras)
- GPS
- Tubos de ensayo
- Matraz
- Mechero
- Asa de Henle
- Pipeta Pasteur

Reactivos

- Caldo Lauryl Triptosa
- Caldo nutritivo con cultivo de *Echerichia coli* (caldo EC)
- Agar ENDO o EMB
- Tiosulfato de sodio

Metodología y manejo de muestras para la determinación de coliformes fecales en la columna de agua.

La metodología de muestreo de acuerdo a la NCh2313/23.Of95 se detalla a continuación:

- Se reúnen los materiales de la lista para el muestreo y de seguridad para trabajos a bordo de embarcaciones y se procede a subir a la embarcación. Con la ayuda del GPS se dirige al área de muestreo, donde, se lanza la botella oceanográfica para obtener las muestras, dependiendo de la planificación realizada antes del muestreo, se sacan las muestras de diferentes profundidades. Y son vertidas en los frascos de vidrio estériles tratadas con tiosulfato de sodio.

- Los frascos con las muestras deben ser refrigerados a 4°C de forma inmediata para evitar la multiplicación de las bacterias producto de la exposición a altas temperaturas. Una vez obtenidas todas las muestras

se traslada al laboratorio para su análisis en un tiempo no superior a las 4 horas.

- De la muestra obtenida, se extrae un inóculo de10 ml y es depositado en un tubo de ensayo con 100 ml de caldo de Lauryl Triptosa y repetir este procedimiento en 4 tubos más. Luego, en otra serie de 5 tubos, depositar un inóculo de 1 ml. Finalmente repetir este procedimiento con un inóculo de 0.1 ml y otra serie de 5 tubos con 100 ml de caldo de Lauryl Triptosa.

- Los tubos deben estar rotulados con la dilución correspondiente y se llevan a incubación por un período de 24 a 48 horas a una temperatura de 35°C.

- Los tubos que resulten positivos, es decir con proliferación bacteriana, son contabilizados mediante una proporción utilizando la tabla de Mc Crady (tabla 3) como cantidad de coliformes totales expresada en NMP/100 ml.

- Para calcular la cantidad de coliformes fecales, se transfiere a los tubos con caldo EC una azada de los cultivos positivos de caldo lauryl triptosa utilizando para ello un asa de Henle (la cantidad de tubos con caldo EC dependerá de la cantidad de tubos positivos con caldo lauryl triptosa).

- Este procedimiento se repite para cada tubo positivo en cada dilución (10 ml, 1 ml y 0.1 ml). Rotulando cada tubo con la dilución correspondiente. Los tubos con caldo EC se incuban de 24 a 48 horas a una temperatura de 44.5° C.

- Luego los tubos positivos, son llevados a una proporción basada en las tablas de Mc Crady, tal como se hace con el recuento de los tubos con lauryl triptosa procediendo a calcular en NMP.

La figura 20 muestra el procedimiento explicado paso por paso.

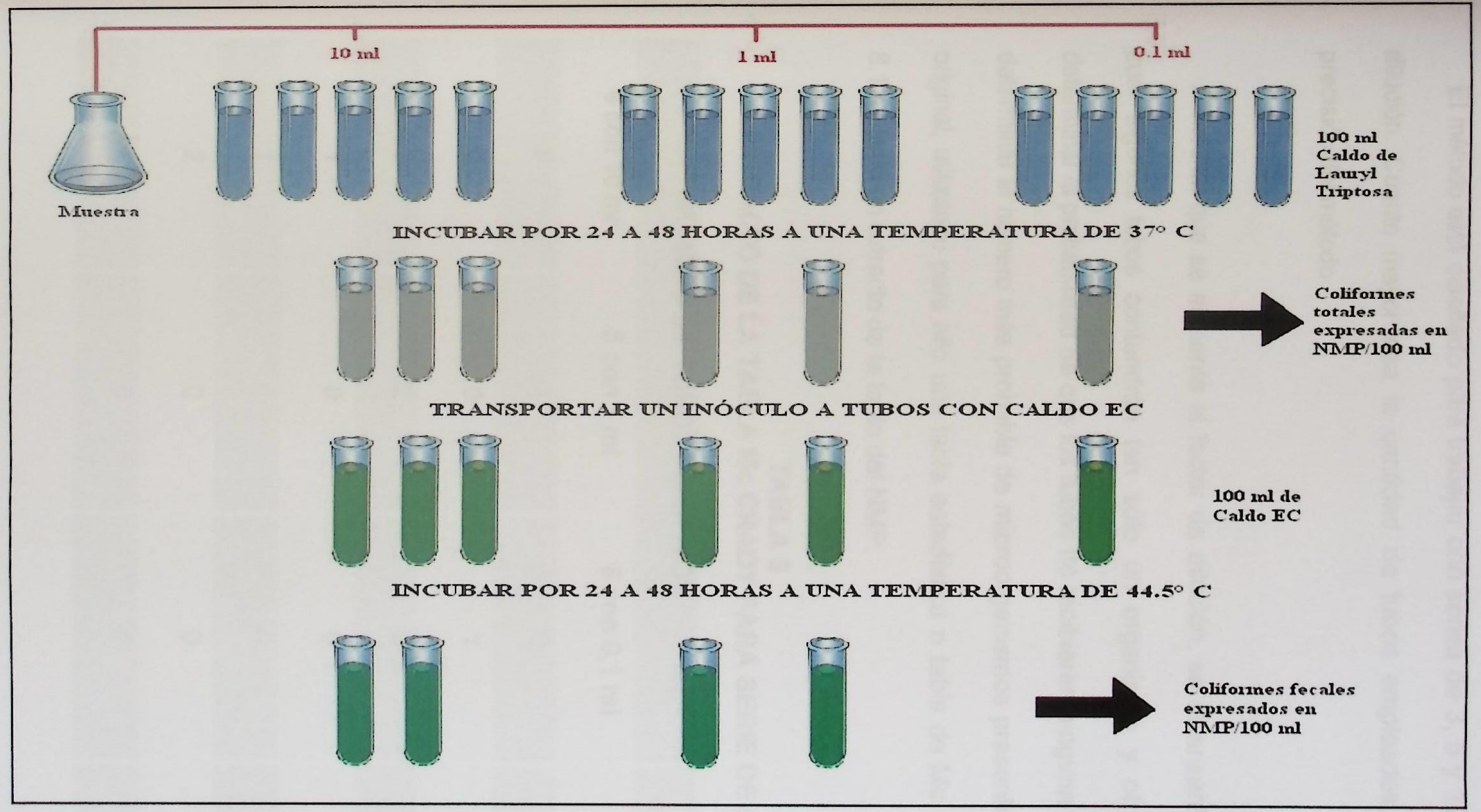


FIGURA 20 PROCEDIMIENTO DEL TRATAMIENTO DE UNA MUESTRA DE AGUA UTILIZANDO LA METODOLOGIA DEL NMP (Elaboración propia).

El método está diseñado para trabajar con series de 3, 5 y 10 tubos por cada dilución. Cuanto mayor sea la cantidad de tubos empleados, mayor será la precisión del método.

A medida que se aumenta el factor de dilución, se alcanzará un punto en el cual algunos tubos contendrán tan sólo un organismo y otros, ninguno. Al determinar la probabilidad de que los tubos no recibieran ninguna célula, se puede determinar el número más probable de microorganismos presentes en la muestra original, utilizando para ello una tabla estadística o tabla de Mc Crady. La Tabla 8.1 muestra un extracto de la tabla del NMP.

TABLA 3
EXTRACTO DE LA TABLA Mc CRADY PARA SERIE DE 5 TUBOS

NÚMERO DE TUBOS POSITIVOS			NMP
5 con 10 ml	5 con 1 ml	5 con 0,1 ml	Por 100 ml
0	1	0	1.8
0	0	1	2
0	2	0	4
1	0	0	2
1	1	0	6
2	0	0	4.5
2	0	1	6.8

2	1	0	6.8
2	2	0	9.3
2	3	0	12
3	0	0	7.8
3	1	0	11
3	1	1	14
3	2	0	14
3	2	1	17
4	0	0	13
4	0	1	17
4	1	0	17
4	1	1	21
5	0	0	23
5	0	1	31
5	1	0	33
5	1	1	46
5	2	0	49
5	2	1	70
5	2	2	95
5	3	0	79

5	3	1	110
5	3	2	140
5	4	0	130
5	4	1	170
5	4	2	220
5	4	3	280
5	5	0	240

Se debe considerar las diluciones usadas al aplicar el método, así, si el número característico corresponde a la combinación de inóculos a 1, 0,1 y 0,01 se debe multiplicar por 10 el valor de la tabla. Por otra parte, si la combinación corresponde a 0,1, 0,01 y 0,001 se deben multiplicar por 100 el NMP.

Si se toma como ejemplo la figura 8.1 tendríamos lo siguiente:

Coliformes totales:

Número característico, es decir, tubos con resultado positivo en cada serie = 3 2 1

Total de coliformes totales NMP/100 ml = 17

Coliformes fecales:

Número característico = 2 2 0

Total coliformes fecales NMP/100 ml = 9.3

ESTUDIO DE COMUNIDADES BENTONICAS

La colecta de las muestras para cualquier tipo de ambiente requiere, como todos los muestreos de tener un objetivo claro de estudio y además de una planificación con anticipación para obtener los resultados que se esperan. Para ello es necesario tener en cuenta los siguientes puntos:

- Selección de la zona o lugar de muestreo
- Elección de la técnica o método de muestreo
- Determinación del método para situar las unidades de muestreo
- Selección del tamaño de la muestra o número de unidades muestrales (réplicas)
- Determinación del tamaño y la forma del dispositivo o unidad de muestreo.

En esta ocasión el manual se centrará en la metodología y requisitos principales de muestreo de acuerdo a lo establecido en la guía metodológica de la DGTM y Res. Exe. N° 3411 y será descrito de acuerdo al tipo de sustrato por separado.

El estudio de las comunidades bentónicas de cualquier tipo sustrato debe considerar unos análisis ecológicos básicos que son requeridos por la autoridad. Estos son basados en los resultados de abundancia y biomasa que son obtenidos al analizar las muestras tomadas de cada comunidad. De acuerdo a la guía

metodológica de la DGTM los estadísticos básicos que se deben calcular en un estudio ambiental son los índices ecológicos como el Índice de diversidad de Shannon-Wienner, Uniformidad y riqueza; las curvas ABC que dan una idea del estado de alteración de la comunidad. Además, se realizan cálculos multivariables donde se realiza un análisis de clasificación numérica utilizando el índice de Bray-Curtis que indica la similitud de las comunidades muestreadas y para hacer una ordenación comunitaria se utiliza el método de escalamiento no métrico (NMDS). La realización de estos cálculos estadísticos se explica a continuación.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO

→ Medias, Moda y medidas de dispersión como la varianza, desviación estándard, error estándar de la media.

→ Índices de diversidad como el Shannon-Wiener y equitatividad o uniformidad (Pielou) y riqueza.

Diversidad de Shannon-Wiener (H´) este índice está descrito para comunidades indefinidamente grandes que no se pueden estudiar en su totalidad ya sea por infraestructura, costos, tiempo etc. Por lo tanto su valor se estima a partir de una muestra al azar y su ecuación es la siguiente:

$$H' = \Sigma\, p_i \log p_i$$ Ecuación 13

Donde p_i es la proporción de la especie i en la muestra o bien

$$p_i = \frac{n_i}{N}$$ Ecuación 14

Este índice varía sus valores desde 0, o nula diversidad, hasta el infinito. A partir de valores mayores a 2 bits se puede hablar de una comunidad con una buena diversidad.

Uniformidad (J´) este índice representa la dominancia de una especie sobre el total en una muestra. Se requiere estimar la diversidad máxima teórica de la muestra, que es realizada con la siguiente ecuación:

$$H' \max = \mathrm{Ln}\ k$$ Ecuación 15

Donde k es el número de categorías o especies. Una vez establecido el valor de H´max se puede estimar el índice de uniformidad con la siguiente ecuación:

$$J' = \frac{H'}{H' \max}$$ Ecuación 16

Los valores de uniformidad tienen un rango entre 0 y 1. Si el valor es cercano a 0 la dominancia de las especies es baja, en otras palabras que no hay una especie que domine fuertemente sobre las otras. Ahora bien, si los valores se acercan a 1 quiere decir que hay una especie dominante.

Riqueza (S) puede expresarse simplemente como el número de especies considerando su aproximación a la máxima diversidad posible para un N y un S determinados.

→ También, como métodos descriptivos de las comunidades se encuentran las curvas ABC.

Representación de la relación Abundancia-Biomasa o Curvas ABC esta curva representa en una escala semilogarítmica acumulativa de ambos parámetros versus el número de especies ordenadas de acuerdo a estos atributos. Esta curva permite evaluar el grado de perturbación de las comunidades. Se grafica en el eje "x" el logaritmo de S y en el eje "y" la dominancia (número de individuos por especie) en porcentaje acumulativo. La figura 21 muestra un modelo de una curva ABC.

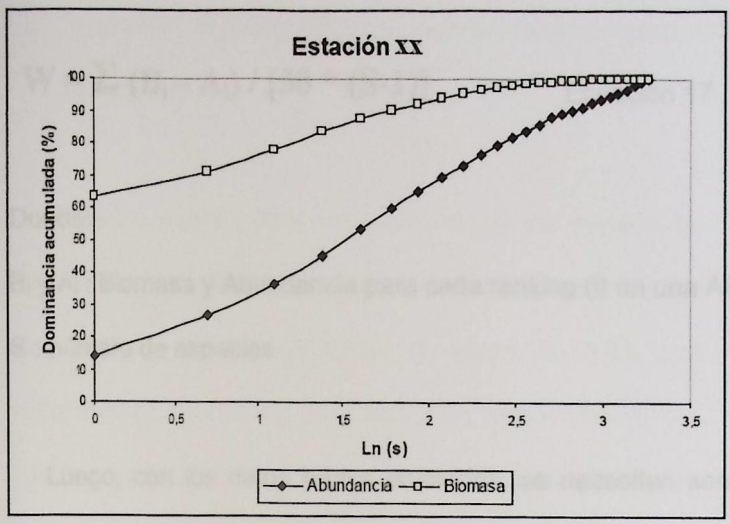


FIGURA 21 MODELO DE UNA CURVA ABC (Elaboración propia)

Cuando la curva de biomasa esta por sobre la curva de abundancia, entonces la suma de los valores ($B_i - A_i$) a través del ranking "i" será fuertemente positiva, lo que representa sistemas no perturbados. Por el contrario, si la curva de abundancia está por sobre la curva de biomasa, es decir que la suma es negativa, se estaría frente a un sistema con algún tipo de perturbación. Si hay casos intermedios en que las curvas se entrecruzan darían valores cercanos a 0 (Clarke & Warwick, 1994). Debe tenerse en cuenta que las curvas ABC relacionan la dominancia tanto en biomasa como en abundancia, de acuerdo al ordenamiento (ranking) de las especies, de modo que "W" será influenciado por las categorías (especies) así como el número de individuos por especie. Estos descriptores, resultan fuertemente afectados por factores ambientales y estacionales (Contreras *et al.*, 2000).

Entonces la expresión W esta dada por la siguiente ecuación:

$$W = \Sigma (B_i - A_i) / [50 * (S-1)]$$ Ecuación 17

Donde:

B_i y A_i : Biomasa y Abundancia para cada ranking (i) en una ABC.

S : número de especies

Luego, con los datos brutos obtenidos, se necesitan someter a un Tests de normalidad (ej. Shapiro-Wilk) para ver si los datos siguen o no una distribución normal, para esto es necesario tener claro en el test cuáles son las hipótesis nula (H_0) y la hipótesis alternativa (H_1). Para esto, H_0 asume que los datos tienen una distribución normal y H_1 no lo son. El rechazo o aceptación de la hipótesis nula va a depender del resultado de p-value, es decir, si la probabilidad de cumplirse H_0 es mínima, esto es $p \leq 0,05$, se rechaza y se acepta H_1 (o sea, se asume que los datos no son normales).

ESTADÍSTICA UNIVARIANTE

→ Tests de comparación de medias, que la mayoría de los tests que se aplican en estadística son tests de comparación de medias, con los que queremos explorar si las medias de dos poblaciones son iguales o distintas, por lo tanto, H_0 o hipótesis nula será las medias son iguales y la hipótesis alternativas o H_1 será las medias no son iguales. Entre los tests convencionales sencillos

de comparación de medias destacan la t-student, que es un test paramétrico y los test U-Mann Whitney, signos, rangos-signos, etc. que son tests no paramétricos.

También existen tests de comparación de medias que tienen en cuenta la varianza de los datos. Se trata del ANOVA (paramétrico) o el Kruskal Wallis (no paramétrico). Estos tests tienen la misma H_0 y H_1 que el resto de tests de comparación de medias pero son más restrictivos ya que para poder aplicar el ANOVA paramétrico se deben verificar dos hipótesis: normalidad de los datos y homocedasticidad o igualdad de varianzas. Para ello tenemos que aplicar un test de normalidad (Shapiro-Wilk) y un test de homocedasticidad (Levene o Barlett).

ESTADÍSTICA MULTIVARIANTE

→ Análisis de clasificación (clusters o dendrogramas) como el de Bray-Curtis.

Índice de similitud Bray-Curtis es utilizada para calcular la distancia entre las estaciones. Esta técnica debiera permitir la separación de las muestras de las comunidades afectadas por los contaminantes de la variabilidad ambiental natural de las comunidades en el área de estudio, formando grupos similares, según la composición de especies.

A partir de los datos de abundancia de las especies para cada estación, se calcula el índice de Bray-Curtis (δ_{jk}) con la siguiente ecuación:

$$\delta_{jk} = \frac{\sum_{i=1}^{S} | Y_{ij} - Y_{ik} |}{\sum_{i=1}^{S} (Y_{ij} + Y_{ik})} \qquad \text{Ecuación 18}$$

Donde:

Y_{ij} : es la abundancia de la i-*esima* especie en el sitio j (estación)

Y_{ik} : es la i- *esima* especie en el sitio k, calculado sobre el total de especies S.

A partir de las similitudes entre estaciones se forma una matriz asimétrica se similitudes y se realizan pareos sucesivos de los grupos similares hasta que toda la muestra o grupos de la muestra se agrupan en un conjunto mayor formándose así un dendrograma. La figura 22 muestra el ejemplo de un cluster o dendrograma de Bray-Curtis.

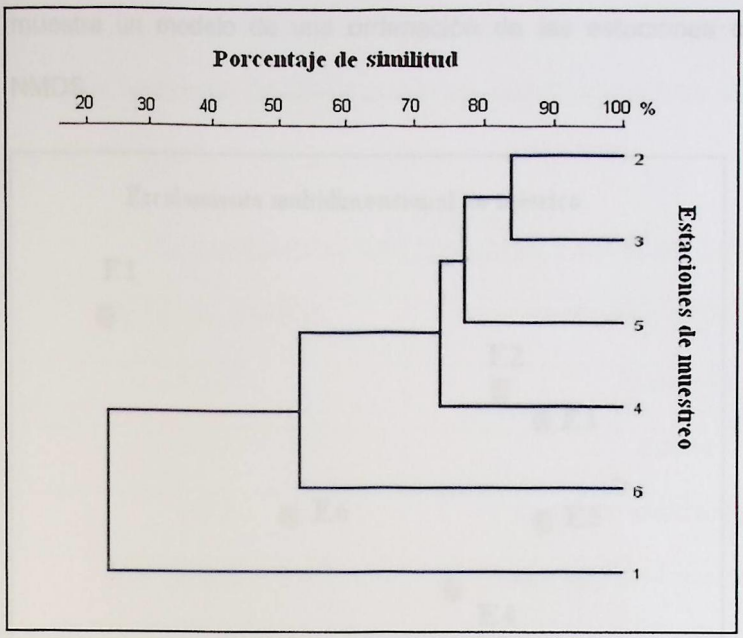


FIGURA 22 MODELO DE UN DENDROGRAMA O CLUSTER DE SIMILITD BRAY-CURTIS (Elaboración propia).

→ Análisis de ordenación, como el método de escalamiento no métrico o NMDS

Método de escalamiento no métrico (NMDS) la ordenación de las comunidades se realiza de acuerdo al escalamiento multidimensional no paramétrico que es una metodología introducida por Shepard (1962) y Kruskal (1964). La técnica utiliza los rangos de la formación de la matriz de similitud del análisis clasificatorio, básicamente se ubican las estaciones o especies en un espacio de ordenación de baja dimensión, de tal modo que las distancias entre punto en la ordenación tengan el mismo rango de orden que los puntos de disimilitud. Esta técnica multivariada es muy bien utilizada para los estudios bentónicos debido a su gran sensibilidad (Warwick &Clarke, 1993). La figura 23

muestra un modelo de una ordenación de las estaciones con la metodología NMDS.

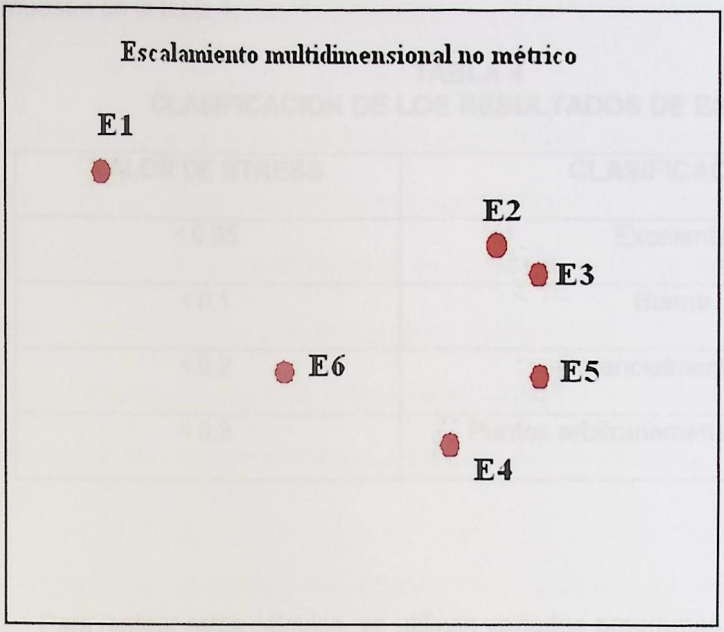


FIGURA 23 MODELO DE UNA ORDENACION DE LAS ESTACIONES CON EL MÉTODO DE ESCALEMIENTO NO MÉTRICO (Elaboración propia).

Cada uno de estos diagramas arroja un coeficiente numérico llamado Stress, que es el criterio de aceptación de las agrupaciones formadas en cada ordenación, en otras palabras es una medida de bondad de ajuste de esta ordenación y se estima según la siguiente ecuación:

$$Stress = \frac{\sum_{j}^{n} \sum_{k>j}^{n} \left(d_{jk} - \hat{d}_{jk} \right)^2}{\sum_{j}^{n} \sum_{j>k}^{n} d_{ij}^2}$$

Ecuación 19

Donde d_{jk} : es la distancia estimada de la regresión. Según Clarke & Warwick (1990) el coeficiente de stress puede ser clasificado dentro de la escala que se muestra en la tabla 4:

TABLA 4
CLASIFICACION DE LOS RESULTADOS DE ESTRÉS

VALOR DE STRESS	CLASIFICACIÓN
< 0.05	Excelente
< 0.1	Buena
< 0.2	Potencialmente útil
< 0.3	Puntos arbitrariamente localizados

Para realizar estos cálculos, se utilizan variados programas ecológicos los más comunes son el PAST.exe, el BIODIVERSITY PRO versión 2.0 y el PRIMER 5.0 para los estudios comunitario. Los resultados son entregados en un informe final expresados en tablas y diagramas que permiten tener una visión general del estado de las comunidades muestreadas.

COMUNIDADES SUBMAREALES DE FONDO BLANDO

Preparación del programa de muestreo

Para realizar un muestreo de las comunidades bentónicas de fondo blando es necesario establecer las estaciones de muestreo y el total de réplicas que se obtendrán. Para lograr tal objetivo es necesario tener los materiales necesarios para tal estudio y profesionales competentes que sepan emplearlos correctamente. Lo que mas comúnmente se utiliza para extraer sedimentos para analizar la fauna bentónica contenida en ella son las dragas.

Draga: es un instrumento ampliamente utilizado en estudios de ecología bentónica, que consta de un sistema de mordedura que permite atrapar una cantidad determinada de sedimento. La figura 24 muestra un modelo de este instrumento.

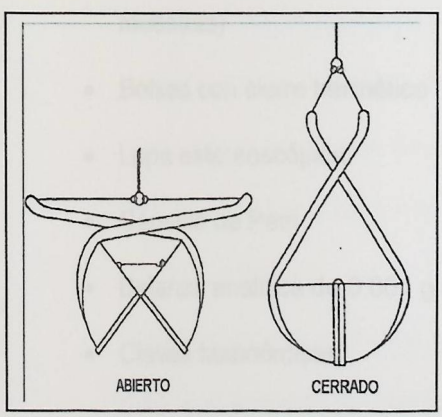


FIGURA 24 DRAGA TIPO VAN VEEN (www.fao.org)

Materiales necesarios para el estudio de comunidades bentónicas de fondo blando

Para poder estudiar a las comunidades bentónicas de fondo blando son necesarios los equipos y reactivos que se listan a continuación.

Protección personal

- Botas o vadeadores de pescador
- Guantes de látex
- Chaleco salvavidas (Muestreo desde embarcación)
- Delantal para el trabajo en laboratorio

Recolección y análisis de Muestras

- Draga de 0.1 m^2 y winche
- Tamiz 1 mm de abertura de malla
- GPS
- Frascos rotulados (la cantidad necesaria dependiendo de la cantidad de muestras)
- Bolsas con cierre hermético
- Lupa estereoscópica
- Cápsula de Petri
- Balanza analítica de 0.001 g de precisión
- Claves taxonómicas

Reactivos

- Formalina 10% o Alcohol diluido al 70%

Metodología y manejo de muestras

La metodología para tomar las muestras de organismos bentónicos de fondo blando se nombra a continuación:

- Se reúnen los materiales listados anteriormente para llevar a cabo el muestreo y se abordan en la embarcación junto con el personal competente. Tomando las medidas de seguridad para trabajos a bordo.

- En la embarcación, se utiliza un GPS para dirigirse a las estaciones de muestreo.

- Una vez que se llega al lugar, se lanza la draga al mar y se obtiene la muestra, esto se repite dependiendo de la cantidad de réplicas que se programaron al momento de preparar el muestreo. El contenido de la draga puede manejarse de dos formas, tamizando directamente a bordo utilizando un tamiz de 1 mm de abertura de malla y los organismos que quedan retenidos en el son guardados en frascos rotulados y preservados con formalina al 10% o con alcohol diluido con agua de mar. Si la embarcación no tiene las condiciones en cuanto a espacio, el

contenido de la draga es vaciado en bolsas con cierre hermético y llevadas al laboratorio para ser tamizadas y analizadas.

- Si el muestreo es realizado por medio de un "Air lift" utilizado por un buzo autónomo, el procedimiento es similar ya que se toma la cantidad de muestras dependiendo de las réplicas y una vez a bordo las muestras pueden ser tamizadas en la misma embarcación o bien, guardada en bolsas herméticas etiquetadas para su posterior separación y análisis en el laboratorio.

- Este procedimiento es repetido en cada estación de muestreo establecida con anterioridad.

Análisis estadístico de la información

Obtenida la muestra, ésta es llevada a laboratorio y es analizada siguiendo los siguientes pasos:

- Si la muestra no ha sido tamizada, se procede a realizarlo mediante un tamiz de 1mm de abertura de malla con la ayuda de un aspersor de agua. Los organismos contenidos en cada muestra son separados y llevados a unos frascos para su posterior determinación.

- Los organismos de cada frasco son analizados bajo lupa, se van separando por cada taxón para luego determinarse hasta el nivel taxonómico más bajo posible. Esta macrofauna bentónica debe ser caracterizada por personal competente y con la ayuda de claves taxonómicas.

- Las especies identificadas son contabilizadas para posteriormente calcular la abundancia expresada en individuos x unidad de área^{-1}

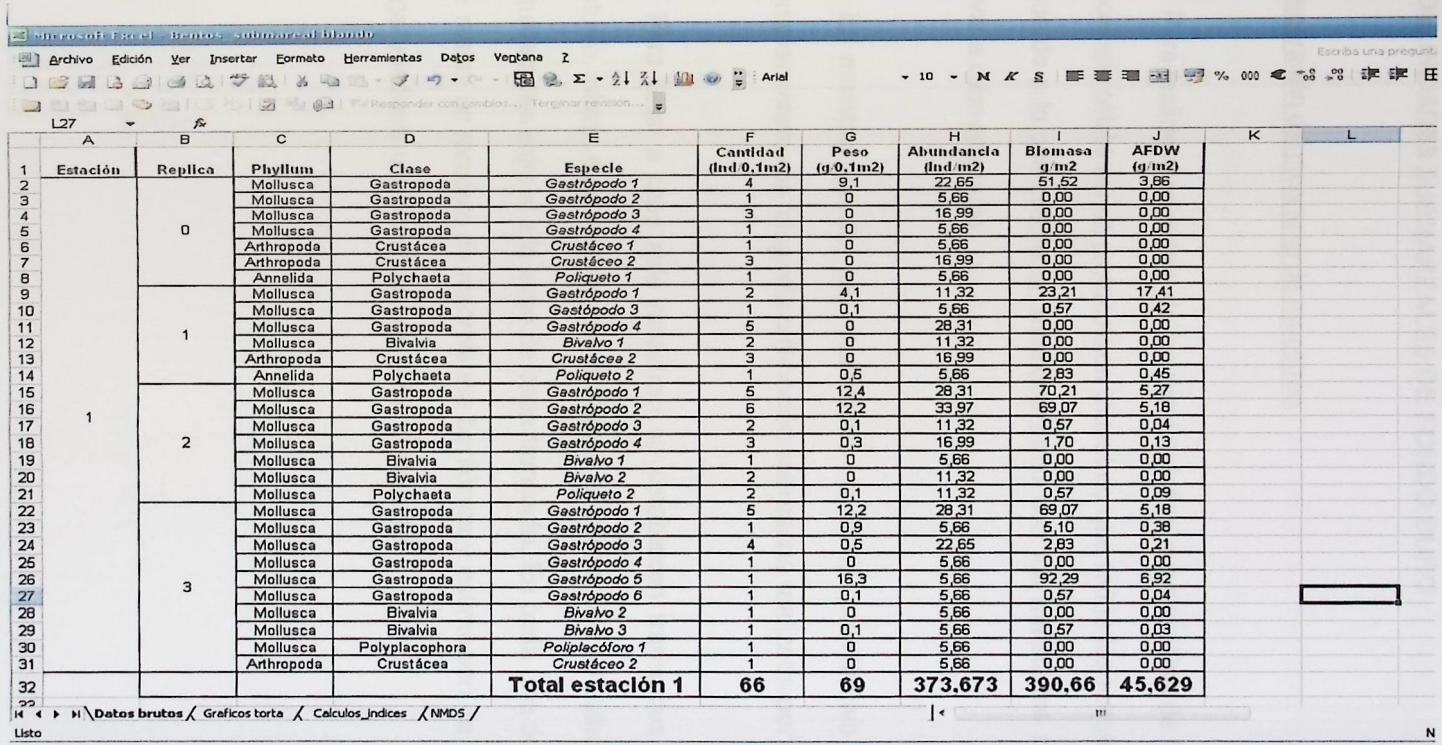
- Los organismos se dejan drenar sobre papel absorbente por unos 10 minutos y luego son pesados con una balanza analítica para obtener un peso húmedo alcohólico expresado en gramos. De acuerdo con la guía metodológica de la DGTM la expresión de la biomasa debe ser en peso libre de cenizas o AFDW. Para expresar estos resultados Ricciardi & Bourget (1998), después de un largo trabajo de recopilación de datos de fauna bentónica determinaron un factor de conversión de peso húmedo a AFDW separado por taxón. La tabla 5 muestra una tabla con los factores de conversión mencionados.

TABLA 5
FACTORES DE CONVERSION DE PESO DE VARIADOS TAXAS (Elaboración propia)

TAXA		FACTOR DE CONVERSION	INTERVALO DE CONFIANZA (95%)
Annelida	Polychaeta	0.16	0.15 – 0.17
Mollusca	Gastropoda-Prosobranchia	0.075	0.057 – 0.093
	Gastropoda-Opistobranchia	0.138	0.134 – 0.142
	Bivalvia	0.058	0.052 – 0.064
	Cephalopoda	0.214	0.136 – 0.292
Crustacea	Amphipoda	0.16	0.141 – 0.174
	Decapoda	0.165	0.146 – 0.184
Echinodermata	Asteroidea	0.112	0.071 – 0.153
	Ophiuroidea	0.074	0.048 – 0.1
	Echinoida	0.035	0.014 – 0.056
Porifera	Demospongiae	0.107	0.093 – 0.121
Actinaria		0.143	0.06 – 0.226

- Esta información es traspasada a una planilla Excel para su análisis estadístico y la figura 25 muestra un ejemplo.

- Utilizando programas para estudios comunitarios se realizan los cálculos de los índices ecológicos y análisis multivariados que serán expresados mediante tablas y diagramas para realizar las conclusiones de la comunidad muestreada.



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	Estación	Replica	Phyllum	Clase	Especie	Cantidad (Ind/0,1m2)	Peso (g/0,1m2)	Abundancia (Ind/m2)	Biomasa g/m2	AFDW (g/m2)		
2			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 1*	4	9,1	22,65	51,52	3,86		
3			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 2*	1	0	5,66	0,00	0,00		
4			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 3*	3	0	16,99	0,00	0,00		
5		0	Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 4*	1	0	5,66	0,00	0,00		
6			Arthropoda	Crustácea	*Crustáceo 1*	1	0	5,66	0,00	0,00		
7			Arthropoda	Crustácea	*Crustáceo 2*	3	0	16,99	0,00	0,00		
8			Annelida	Polychaeta	*Poliqueto 1*	1	0	5,66	0,00	0,00		
9			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 1*	2	4,1	11,32	23,21	17,41		
10			Mollusca	Gastropoda	*Gastópodo 3*	1	0,1	5,66	0,57	0,42		
11		1	Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 4*	5	0	28,31	0,00	0,00		
12			Mollusca	Bivalvia	*Bivalvo 1*	2	0	11,32	0,00	0,00		
13			Arthropoda	Crustácea	*Crustácea 2*	3	0	16,99	0,00	0,00		
14			Annelida	Polychaeta	*Poliqueto 2*	1	0,5	5,66	2,83	0,45		
15			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 1*	5	12,4	28,31	70,21	5,27		
16	1		Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 2*	6	12,2	33,97	69,07	5,18		
17			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 3*	2	0,1	11,32	0,57	0,04		
18		2	Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 4*	3	0,3	16,99	1,70	0,13		
19			Mollusca	Bivalvia	*Bivalvo 1*	1	0	5,66	0,00	0,00		
20			Mollusca	Bivalvia	*Bivalvo 2*	2	0	11,32	0,00	0,00		
21			Mollusca	Polychaeta	*Poliqueto 2*	2	0,1	11,32	0,57	0,09		
22			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 1*	5	12,2	28,31	69,07	5,18		
23			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 2*	1	0,9	5,66	5,10	0,38		
24			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 3*	4	0,5	22,65	2,83	0,21		
25			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 4*	1	0	5,66	0,00	0,00		
26		3	Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 5*	1	16,3	5,66	92,29	6,92		
27			Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 6*	1	0,1	5,66	0,57	0,04		
28			Mollusca	Bivalvia	*Bivalvo 2*	1	0	5,66	0,00	0,00		
29			Mollusca	Bivalvia	*Bivalvo 3*	1	0,1	5,66	0,57	0,03		
30			Mollusca	Polyplacophora	*Poliplacóforo 1*	1	0	5,66	0,00	0,00		
31			Arthropoda	Crustácea	*Crustáceo 2*	1	0	5,66	0,00	0,00		
32					**Total estación 1**	**66**	**69**	**373,673**	**390,66**	**45,629**		

FIGURA 25 PLANILLA EXCEL MODELO CON EL LISTADO DE LAS ESPECIES Y CALCULOS DE ABUNDANCIA Y BIOMASA EN COMUNIDADES SUBMAREALES DE FONDO BLANDO (Elaboración propia).

COMUNIDADES SUBMAREALES DE FONDO DURO

Preparación del programa de muestreo

Para realizar el muestreo de las comunidades submareales de fondo rocoso es necesario establecer un protocolo de muestreo que reúna los requisitos básicos de acuerdo a lo que solicita la autoridad junto con los materiales necesarios para llevar a cabo esta tarea.

El muestreo puede ser cuantitativo o semi cuantitativo y puede ser complementado con fotografía o filmación submarina realizada por un buzo.

Para llevar a cabo este muestreo se establecen transectas en el área de estudio, mínimo 6 de acuerdo a la autoridad marítima, con 10 estaciones cada una equidistantes entre sí a lo largo de cada transecta. En cada una de las estaciones se realiza un recuento de macrofauna bentónica y estimación de la cobertura de algas mediante una cuadrícula de 0.25 m^2 de área.

Materiales para el estudio de comunidades bentónicas de fondo duro

Para el estudio de las comunidades bentónicas submareales de fondo duro son necesarios los equipos y reactivos que se listan a continuación.

Protección personal

- Botas o vadeadores de pescador
- Chaleco salvavidas (muestreo en bote)

Recolección y análisis de Muestras

- Equipo de Buceo completo para buceo autónomo o semi autónomo
- Cuadrícula de 0.25 m^2
- Tablilla para anotar bajo el agua
- Cámara fotográfica submarina (opcional)
- Frascos rotulados (para guardar organismo que no sean identificados *in situ*)
- GPS
- Claves taxonómicas

Reactivos

- Formalina al 10% ó alcohol diluido 70%

Metodología y manejo de muestras

La metodología de muestreo de acuerdo a lo establecido por la DGTM es la siguiente:

- Se reúnen los materiales necesarios para el muestreo cuidando que le equipo de buceo esté en perfectas condiciones, además de las medidas de seguridad para realizar trabajos en el mar.

- Con la ayuda de un GPS, la embarcación se dirige al lugar de estudio

- Una vez en el punto de muestreo, el buzo se lanza al mar con una tablilla y la cuadrícula para hacer el recuento de macrofauna bentónica y algas en cada estación de la transecta. El buzo se lanza en la primera estación o inicio de la transecta que es el lugar mas cercano a la costa para luego ir recorriendo hacia el fondo en línea recta parando en cada estación para hacer el recuento visual.

- Como opción puede lanzarse otro buzo para realizar las labores de filmación y fotografía submarina en cada transecta de muestreo.

- Si hubiesen especies que el buzo no identifica, estas son recogidas y guardadas en frascos para su posterior determinación en laboratorio utilizando las claves taxonómicas.

- Cada vez que el buzo asciende con la tablilla con los datos obtenidos de la inspección visual éstos son traspasados por un profesional a una planilla que tiene a bordo para reutilizar la tablilla en las otras inspecciones. La planilla es una copia exacta de los datos tomados por el buzo.

- Este procedimiento es repetido en todas las transectas que fueron programadas al preparar el muestreo.

Análisis estadístico de la información

Una vez realizado el muestreo los datos obtenidos son llevados al laboratorio y se analizan siguiendo los siguientes pasos:

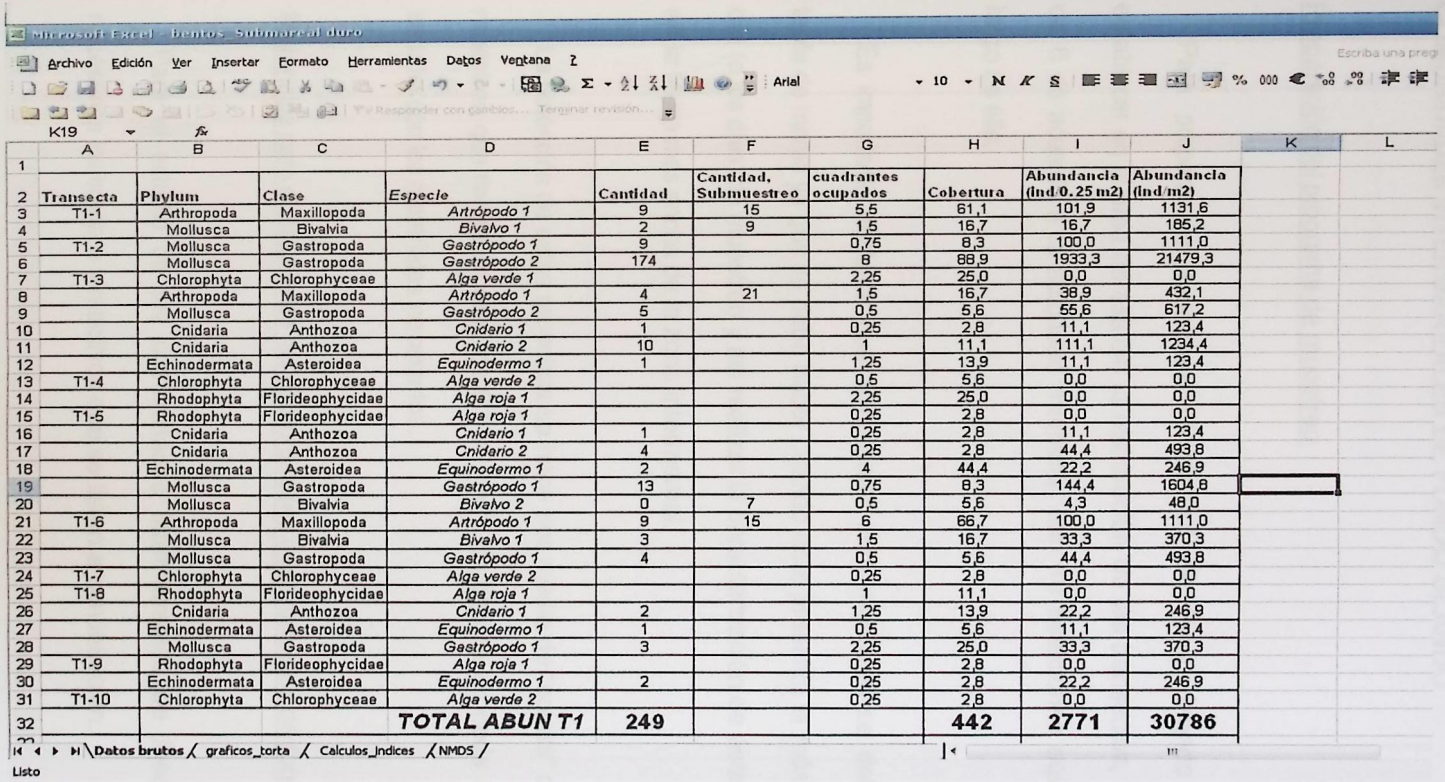
- Si durante el muestreo no se identificaron algunas especies éstas son identificadas en el laboratorio con ayuda de claves taxonómicas.

- Los datos del muestreo, que están el las planillas realizadas a bordo, son traspasados a una planilla Excel para su orden y análisis estadístico.

- Estos datos se ordenan por transecta y estación muestreada junto con el número de especies de la macrofauna contabilizada además del número de cuadrantes ocupados por las algas para la determinación de la abundancia y la cobertura respectivamente. La figura 26 muestra una planilla modelo del orden de las especies y el cálculo de la abundancia en ind/m^2 y cobertura en porcentaje.

- Los resultados de abundancia son utilizados para el cálculo de los índices ecológicos y análisis multivariados que son requeridos. Como el muestreo que se realiza no es destructivo, es decir que no se obtienen ejemplares de las transectas, la biomasa no es estimada, ya que no se tiene un peso de los organismos observados por lo que las curvas ABC no pueden ser realizadas. Sin embargo, todos los demás cálculos descritos pueden realizarse sin inconvenientes.

- Los resultados tanto de cobertura como el de los índices ecológicos son presentados en un informe final mediante tablas y gráficos y conclusiones realizadas al respecto.



Microsoft Excel - bentos_Submareal duro

Archivo Edición Ver Insertar Formato Herramientas Datos Ventana ?

K19

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1												
2	Transecta	Phylum	Clase	Especie	Cantidad	Cantidad, Submuestreo	cuadrantes ocupados	Cobertura	Abundancia (Ind/0.25 m2)	Abundancia (Ind/m2)		
3	T1-1	Arthropoda	Maxillopoda	*Artrópodo 1*	9	15	5,5	61,1	101,9	1131,6		
4		Mollusca	Bivalvia	*Bivalvo 1*	2	9	1,5	16,7	16,7	185,2		
5	T1-2	Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 1*	9		0,75	8,3	100,0	1111,0		
6		Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 2*	174		8	88,9	1933,3	21479,3		
7	T1-3	Chlorophyta	Chlorophyceae	*Alga verde 1*			2,25	25,0	0,0	0,0		
8		Arthropoda	Maxillopoda	*Artrópodo 1*	4	21	1,5	16,7	38,9	432,1		
9		Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 2*	5		0,5	5,6	55,6	617,2		
10		Cnidaria	Anthozoa	*Cnidario 1*	1		0,25	2,8	11,1	123,4		
11		Cnidaria	Anthozoa	*Cnidario 2*	10		1	11,1	111,1	1234,4		
12		Echinodermata	Asteroidea	*Equinodermo 1*	1		1,25	13,9	11,1	123,4		
13	T1-4	Chlorophyta	Chlorophyceae	*Alga verde 2*			0,5	5,6	0,0	0,0		
14		Rhodophyta	Floridеophycidae	*Alga roja 1*			2,25	25,0	0,0	0,0		
15	T1-5	Rhodophyta	Floridеophycidae	*Alga roja 1*			0,25	2,8	0,0	0,0		
16		Cnidaria	Anthozoa	*Cnidario 1*	1		0,25	2,8	11,1	123,4		
17		Cnidaria	Anthozoa	*Cnidario 2*	4		0,25	2,8	44,4	493,8		
18		Echinodermata	Asteroidea	*Equinodermo 1*	2		4	44,4	22,2	246,9		
19		Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 1*	13		0,75	8,3	144,4	1604,8		
20		Mollusca	Bivalvia	*Bivalvo 2*	0	7	0,5	5,6	4,3	48,0		
21	T1-6	Arthropoda	Maxillopoda	*Artrópodo 1*	9	15	6	66,7	100,0	1111,0		
22		Mollusca	Bivalvia	*Bivalvo 1*	3		1,5	16,7	33,3	370,3		
23		Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 1*	4		0,5	5,6	44,4	493,8		
24	T1-7	Chlorophyta	Chlorophyceae	*Alga verde 2*			0,25	2,8	0,0	0,0		
25	T1-8	Rhodophyta	Floridеophycidae	*Alga roja 1*			1	11,1	0,0	0,0		
26		Cnidaria	Anthozoa	*Cnidario 1*	2		1,25	13,9	22,2	246,9		
27		Echinodermata	Asteroidea	*Equinodermo 1*	1		0,5	5,6	11,1	123,4		
28		Mollusca	Gastropoda	*Gastrópodo 1*	3		2,25	25,0	33,3	370,3		
29	T1-9	Rhodophyta	Floridеophycidae	*Alga roja 1*			0,25	2,8	0,0	0,0		
30		Echinodermata	Asteroidea	*Equinodermo 1*	2		0,25	2,8	22,2	246,9		
31	T1-10	Chlorophyta	Chlorophyceae	*Alga verde 2*			0,25	2,8	0,0	0,0		
32				***TOTAL ABUN T1***	**249**			**442**	**2771**	**30786**		

Datos brutos / graficos_torta / Calculos_Indices / NMDS /

Listo

FIGURA 26 PLANILLA EXCEL MODELO CON EL LISTADO DE LAS ESPECIES Y CALCULOS DE ABUNDANCIA Y COBERTURA EN COMUNIDADES SUBMAREALES DE FONDO DURO (Elaboración propia).

COMUNIDADES INTERMAREALES DE FONDO BLANDO

Preparación del programa de muestreo

Para preparar un muestreo intermareal de fondo blando es necesario establecer en el área de estudio la distribución de las transectas, con un mínimo de 6 de acuerdo a la autoridad marítima, con 10 estaciones equidistantes a lo largo de ella.

Es importante destacar que al preparar este muestreo se debe consultar la tabla de marea ya que se debe hacer cuando este presenta la más baja marea de día (o los días) de muestreo y así realizar la caracterización de éstas comunidades en la franja mas ancha de la zona intermareal.

La obtención de estas muestras se hace por medio de "corers" o recipientes de muestreo que tienen un área de 0.5 a 1 m^2. Luego se procede a ir al lugar de estudio con los materiales necesarios.

Materiales para el estudio de las comunidades intermareales de fondo blando

Para el estudio de las comunidades intermareales de fondo blando son necesarios los equipos y reactivos que se listan a continuación.

Protección personal

- Botas o vadeadores de pescador
- Guantes de látex
- Delantal para el trabajo en laboratorio

Recolección y análisis de Muestras

- Corer de 0.5 a 1 m^2
- Tamiz 1 mm de abertura de malla
- Pala pequeña, de jardín
- GPS
- Frascos rotulados (la cantidad necesaria dependiendo de la cantidad de muestras)
- Lupa estereoscópica
- Cápsula de Petri
- Balanza analítica de 0.001 g de precisión
- Claves taxonómicas

Reactivos

- Formalina 10% o Alcohol diluido al 70%

Metodología y manejo de muestras

La metodología de acuerdo a la guía de la DGTM para tomar las muestras de organismos bentónicos intermareales de fondo blando se explica a continuación:

- Se reúnen los materiales necesarios para llevar a cabo el muestreo.
- Al llegar al lugar de estudio, con la ayuda de un GPS se procede a dirigir a las transectas que serán muestreadas
- Una vez que se llega a la ubicación de la primera transecta, se establece la línea de la mas alta marea marcando el inicio de la transecta o estación 1 y de ahí en línea recta perpendicular a la línea de costa se establecen las 9 estaciones restantes que sean equidistantes entre sí y que abarquen toda la franja intermareal.
- De cada estación se saca una muestra de arena utilizando el corer de una medida establecida y luego pasada por un tamiz de 1 mm de abertura de malla.
- Los organismos que son retenidos en el tamiz son traspasados a un frasco rotulado y fijado con formalina al 10% o alcohol diluido 70%.

- Este procedimiento es repetido en cada transecta y estación correspondiente.

Análisis estadístico de la información

Obtenida la muestra, ésta es llevada a laboratorio y es analizada siguiendo los siguientes pasos:

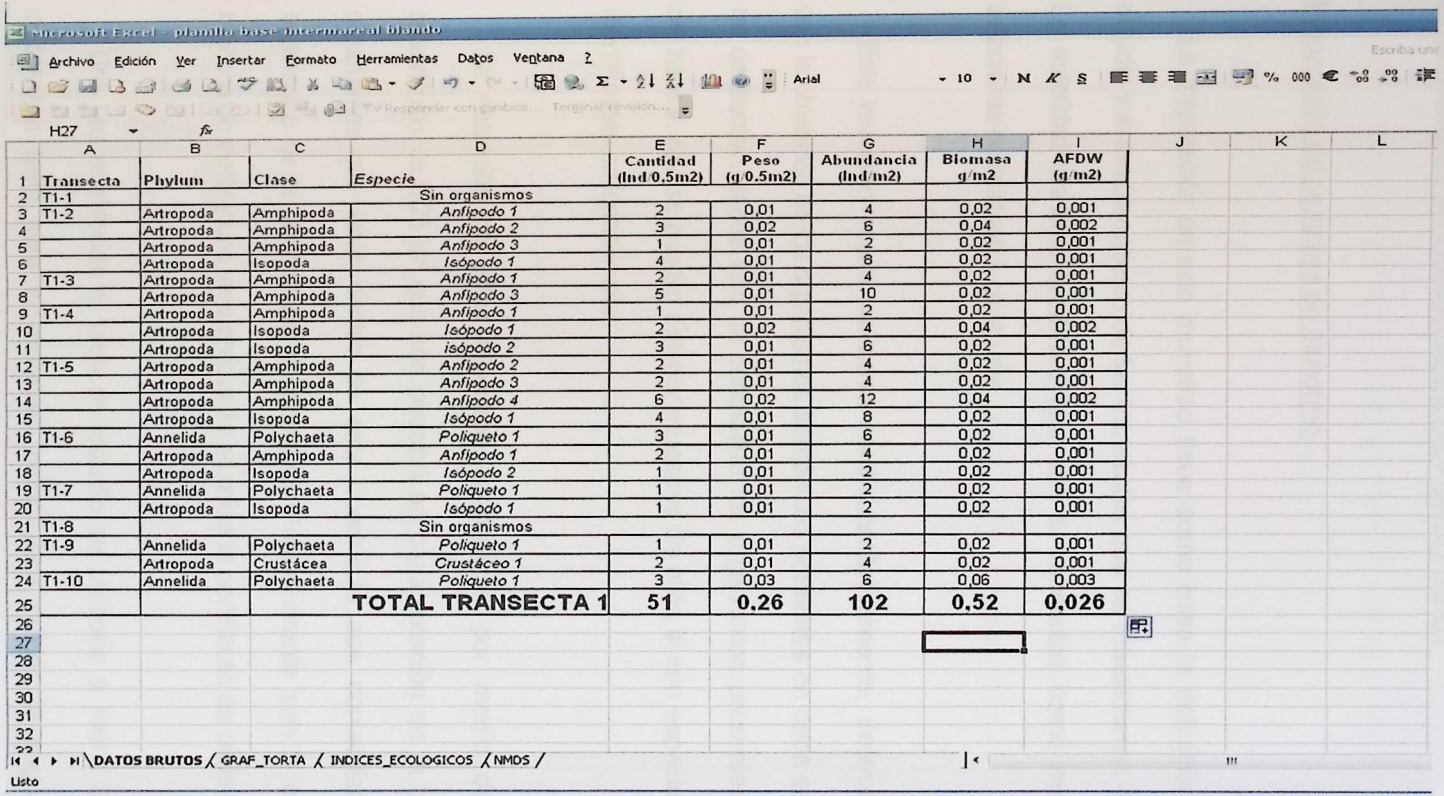
- Los organismos de cada frasco son analizados bajo lupa, se van separando por cada taxón para luego determinarse hasta el nivel taxonómico más bajo posible. Esta macrofauna bentónica debe ser caracterizada por personal competente y con la ayuda de claves taxonómicas.

- Las especies identificadas son contabilizadas para posteriormente calcular la abundancia expresada en individuos * unidad de área^{-1}

- Los organismos se dejan drenar sobre papel absorbente por unos 10 minutos y luego son pesados con una balanza analítica para obtener un peso húmedo alcohólico expresado en gramos. De acuerdo con la guía metodológica de la DGTM la expresión de la biomasa debe ser en peso libre de cenizas o AFDW. La tabla 4 muestra los factores de conversión de peso húmedo a AFDW por taxón.

- Esta información es traspasada a una planilla Excel para su análisis estadístico y la figura 27 muestra un ejemplo.

- Utilizando programas para estudios comunitarios se realizan los cálculos de los índices ecológicos y análisis multivariados descritos en la sección 9 que serán expresados mediante tablas y diagramas para realizar las conclusiones de la comunidad muestreada.



Microsoft Excel - planilla base intermareal blando

Archivo Edición Ver Insertar Formato Herramientas Datos Ventana ?

H27

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	Transecta	Phylum	Clase	Especie	Cantidad (Ind/0,5m2)	Peso (g/0.5m2)	Abundancia (Ind/m2)	Biomasa g/m2	AFDW (g/m2)			
2	T1-1			Sin organismos								
3	T1-2	Artropoda	Amphipoda	*Anfipodo 1*	2	0,01	4	0,02	0,001			
4		Artropoda	Amphipoda	*Anfipodo 2*	3	0,02	6	0,04	0,002			
5		Artropoda	Amphipoda	*Anfipodo 3*	1	0,01	2	0,02	0,001			
6		Artropoda	Isopoda	*Isópodo 1*	4	0,01	8	0,02	0,001			
7	T1-3	Artropoda	Amphipoda	*Anfipodo 1*	2	0,01	4	0,02	0,001			
8		Artropoda	Amphipoda	*Anfipodo 3*	5	0,01	10	0,02	0,001			
9	T1-4	Artropoda	Amphipoda	*Anfipodo 1*	1	0,01	2	0,02	0,001			
10		Artropoda	Isopoda	*Isópodo 1*	2	0,02	4	0,04	0,002			
11		Artropoda	Isopoda	*isópodo 2*	3	0,01	6	0,02	0,001			
12	T1-5	Artropoda	Amphipoda	*Anfipodo 2*	2	0,01	4	0,02	0,001			
13		Artropoda	Amphipoda	*Anfipodo 3*	2	0,01	4	0,02	0,001			
14		Artropoda	Amphipoda	*Anfipodo 4*	6	0,02	12	0,04	0,002			
15		Artropoda	Isopoda	*Isópodo 1*	4	0,01	8	0,02	0,001			
16	T1-6	Annelida	Polychaeta	*Poliqueto 1*	3	0,01	6	0,02	0,001			
17		Artropoda	Amphipoda	*Anfipodo 1*	2	0,01	4	0,02	0,001			
18		Artropoda	Isopoda	*Isópodo 2*	1	0,01	2	0,02	0,001			
19	T1-7	Annelida	Polychaeta	*Poliqueto 1*	1	0,01	2	0,02	0,001			
20		Artropoda	Isopoda	*Isópodo 1*	1	0,01	2	0,02	0,001			
21	T1-8			Sin organismos								
22	T1-9	Annelida	Polychaeta	*Poliqueto 1*	1	0,01	2	0,02	0,001			
23		Artropoda	Crustácea	*Crustáceo 1*	2	0,01	4	0,02	0,001			
24	T1-10	Annelida	Polychaeta	*Poliqueto 1*	3	0,03	6	0,06	0,003			
25				**TOTAL TRANSECTA 1**	**51**	**0,26**	**102**	**0,52**	**0,026**			
26												
27												
28												
29												
30												
31												
32												

DATOS BRUTOS / GRAF_TORTA / INDICES_ECOLOGICOS / NMDS /

Listo

FIGURA 27 PLANILLA EXCEL MODELO CON EL LISTADO DE LAS ESPECIES Y CALCULOS DE ABUNDANCIA Y BIOMASA EN COMUNIDADES INTERMAREALES DE FONDO BLANDO (Elaboración propia).

COMUNIDADES INTERMAREALES DE FONDO DURO

Preparación del programa de muestreo

La preparación de este muestreo tiene como base la definición del área de estudio y el establecimiento de las transectas que se muestrearan dentro de ella. La autoridad marítima establece que son 6 transectas como mínimo con 10 estaciones equidistantes cada una.

Este muestreo puede realizarse semi-cuantitativamente, destructivo es decir con la obtención de los organismos bentónicos presentes en cada estación o bien no destructivo, donde solo se contabiliza los organismos presentes sin sacarlos del hábitat, sólo se pueden obtener muestras de ellos si son especies que no son identificadas en forma *in situ*.

La obtención de estas muestras se realizan por medio de parcelas o cuadrículas de 0.25 m^2 que son puestas en cada estación de la transecta. Los organismos que están dentro de esta cuadrícula son contabilizados para la estimación de la abundancia y cobertura. Paralelamente con la ayuda de una huincha de medir y una vara graduada se mide la pendiente de cada transecta.

Una vez establecida el área de estudio se procede a reunir los materiales necesarios tanto para el muestreo como para cuidar la seguridad de los

profesionales que realicen el trabajo. Es necesario además, que se consulten las tablas de marea para el día (o días) de muestreo ya que esta actividad se debe hacer al momento de la más baja marea.

Materiales para el estudio de comunidades intermareales de fondo duro

Para el estudio de las comunidades intermareales de fondo duro son necesarios los equipos y reactivos que se listan a continuación.

Protección personal

- Botas o vadeadores de pescador
- Casco protector

Recolección y análisis de Muestras

- Cuadrícula de 0.25 m^2
- Planilla o bitácora para anotar los datos
- Frascos rotulados (para guardar organismos que no sean identificados *in situ*)
- GPS
- Huincha de medir
- Vara graduada
- Claves taxonómicas

Reactivos

- Formalina al 10% ó alcohol diluido 70%

Metodología y manejo de muestras

El procedimiento de muestreo, de acuerdo a la guía metodológica de la DGTM se explica a continuación:

- Se reúnen los materiales necesarios para llevar a cabo el muestreo y protección personal.

- Al llegar al lugar de estudio, con la ayuda de un GPS se procede a dirigir a las transectas que serán muestreadas

- Una vez que se llega a la ubicación de la primera transecta, se establece la línea de la mas alta marea marcando el inicio de la transecta o estación 1 y de ahí en línea recta perpendicular a la línea de costa se establecen las 9 estaciones restantes que sean equidistantes entre sí y que abarquen toda la franja intermareal.

- En cada estación se pone la cuadrícula y se registra la información de los organismos macrobentónicos, En organismos móviles se registra el

número de organismos presentes y en los organismos sésiles se define la cantidad de cuadrantes ocupados.

- Si hubiesen organismos que no son identificados en el momento se extrae una muestra de ellos y son guardados en frascos rotulados y fijados con formalina al 10% o alcohol diluido 70%.

- Este procedimiento es repetido en cada transecta y estación correspondiente.

Análisis estadístico de la información

Una vez realizado el muestreo los datos obtenidos son llevados al laboratorio y se analizan siguiendo los siguientes pasos:

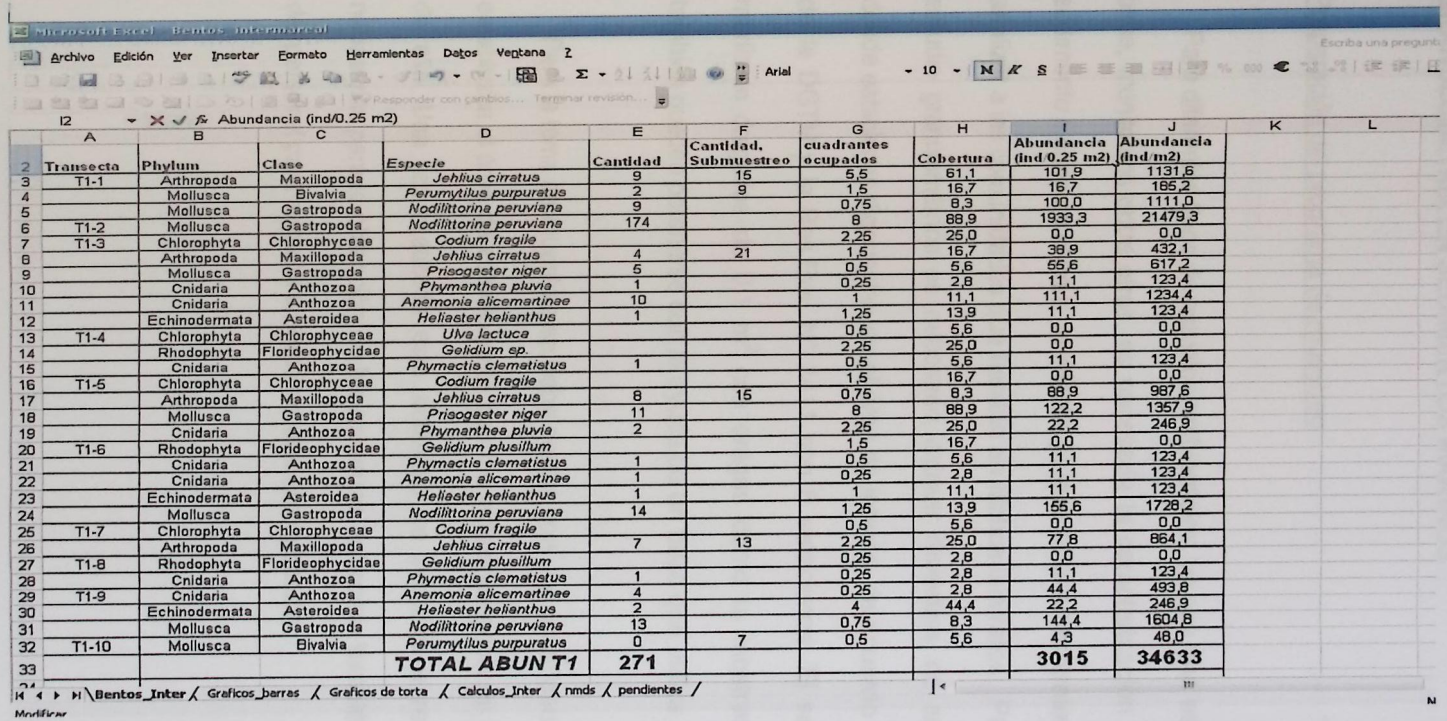
- Si durante el muestreo no se identificaron algunas especies éstas son identificadas en el laboratorio con ayuda de claves taxonómicas.

- Los datos del muestreo, que son las planillas o bitácoras utilizadas en el estudio, son traspasados a una planilla Excel para su orden y análisis estadístico.

- Estos datos se ordenan por transecta y estación muestreada junto con el número de especies de la macrofauna contabilizada además del número de cuadrantes ocupados por las algas y organismos sésiles para la determinación de la abundancia y la cobertura respectivamente. La figura 28 muestra una planilla modelo del orden de las especies y el cálculo de la abundancia en ind/m^2 y cobertura en porcentaje.

- Los resultados de abundancia son utilizados para el cálculo de los índices ecológicos y análisis multivariados que son requeridos. Como el muestreo que se realiza no es destructivo, es decir que no se obtienen ejemplares de las transectas, la biomasa no es estimada, ya que no se tiene un peso de los organismos observados por lo que las curvas ABC no pueden ser realizadas. Sin embargo, todos los demás cálculos descritos pueden realizarse sin inconvenientes. Ahora bien, si se realizara un muestreo destructivo, sí se podrían calcular las curvas ABC.

- Los resultados tanto de cobertura como el de los índices ecológicos son presentados en un informe final mediante tablas y gráficos y conclusiones realizadas al respecto.



Microsoft Excel - Bentos_Intermareal

Archivo Edición Ver Insertar Formato Herramientas Datos Ventana ?

Arial 10

I2 = Abundancia (ind/0.25 m2)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
2	Transecta	Phylum	Clase	Especie	Cantidad	Cantidad, Submuestreo	cuadrantes ocupados	Cobertura	Abundancia (ind/0.25 m2)	Abundancia (ind/m2)		
3	T1-1	Arthropoda	Maxillopoda	*Jehlius cirratus*	9	15	5,5	61,1	101,9	1131,6		
4		Mollusca	Bivalvia	*Perumytilus purpuratus*	2	9	1,5	16,7	16,7	185,2		
5		Mollusca	Gastropoda	*Nodilittorina peruviana*	9		0,75	8,3	100,0	1111,0		
6	T1-2	Mollusca	Gastropoda	*Nodilittorina peruviana*	174		8	88,9	1933,3	21479,3		
7	T1-3	Chlorophyta	Chlorophyceae	*Codium fragile*			2,25	25,0	0,0	0,0		
8		Arthropoda	Maxillopoda	*Jehlius cirratus*	4	21	1,5	16,7	38,9	432,1		
9		Mollusca	Gastropoda	*Prisogaster niger*	5		0,5	5,6	55,6	617,2		
10		Cnidaria	Anthozoa	*Phymanthea pluvia*	1		0,25	2,8	11,1	123,4		
11		Cnidaria	Anthozoa	*Anemonia alicemartinae*	10		1	11,1	111,1	1234,4		
12		Echinodermata	Asteroidea	*Heliaster helianthus*	1		1,25	13,9	11,1	123,4		
13	T1-4	Chlorophyta	Chlorophyceae	*Ulva lactuca*			0,5	5,6	0,0	0,0		
14		Rhodophyta	Florideophycidae	*Gelidium sp.*			2,25	25,0	0,0	0,0		
15		Cnidaria	Anthozoa	*Phymactis clematistus*	1		0,5	5,6	11,1	123,4		
16	T1-5	Chlorophyta	Chlorophyceae	*Codium fragile*			1,5	16,7	0,0	0,0		
17		Arthropoda	Maxillopoda	*Jehlius cirratus*	8	15	0,75	8,3	88,9	987,6		
18		Mollusca	Gastropoda	*Prisogaster niger*	11		8	88,9	122,2	1357,9		
19		Cnidaria	Anthozoa	*Phymanthea pluvia*	2		2,25	25,0	22,2	246,9		
20	T1-6	Rhodophyta	Florideophycidae	*Gelidium pusillum*			1,5	16,7	0,0	0,0		
21		Cnidaria	Anthozoa	*Phymactis clematistus*	1		0,5	5,6	11,1	123,4		
22		Cnidaria	Anthozoa	*Anemonia alicemartinae*	1		0,25	2,8	11,1	123,4		
23		Echinodermata	Asteroidea	*Heliaster helianthus*	1		1	11,1	11,1	123,4		
24		Mollusca	Gastropoda	*Nodilittorina peruviana*	14		1,25	13,9	155,6	1728,2		
25	T1-7	Chlorophyta	Chlorophyceae	*Codium fragile*			0,5	5,6	0,0	0,0		
26		Arthropoda	Maxillopoda	*Jehlius cirratus*	7	13	2,25	25,0	77,8	864,1		
27	T1-8	Rhodophyta	Florideophycidae	*Gelidium pusillum*			0,25	2,8	0,0	0,0		
28		Cnidaria	Anthozoa	*Phymactis clematistus*	1		0,25	2,8	11,1	123,4		
29	T1-9	Cnidaria	Anthozoa	*Anemonia alicemartinae*	4		0,25	2,8	44,4	493,8		
30		Echinodermata	Asteroidea	*Heliaster helianthus*	2		4	44,4	22,2	246,9		
31		Mollusca	Gastropoda	*Nodilittorina peruviana*	13		0,75	8,3	144,4	1604,8		
32	T1-10	Mollusca	Bivalvia	*Perumytilus purpuratus*	0	7	0,5	5,6	4,3	48,0		
33				***TOTAL ABUN T1***	**271**				**3015**	**34633**		

Bentos_Inter / Graficos_barras / Graficos de torta / Calculos_Inter / nmds / pendientes /

Modificar

FIGURA 28 PLANILLA EXCEL MODELO CON EL LISTADO DE LAS ESPECIES Y CALCULOS DE ABUNDANCIA Y COBERTURA EN COMUNIDADES INTERMAREALES DE FONDO DURO (Elaboración propia).

GRANULOMETRIA EN SEDIMENTOS MARINOS

Preparación del programa de muestreo

Para diferentes tipos de estudios ambientales, ya sea una establecimiento línea base, monitoreos entre otros, es necesaria la caracterización granulométrica del sedimento marino en el área de interés ya que es una herramienta importante para analizar a las comunidades que habitan en dichos sustratos. Para el desarrollo del estudio granulométrico es necesario extraer muestras de sedimentos marinos desde estaciones dispuestas en el área de interés, de acuerdo con la metodología de la DGTM y la Res.Exe. N° 3411 son 6 estaciones. El sedimento se extrae mediante dragados de 0,1 m^2 con dragas como la mostrada en la figura 24 también pueden obtenerse con la ayuda de un buzo que utiliza un corer.

Para la toma de muestras se debe contar con una planificación previa donde se establezca el área de estudio junto con las estaciones que se muestrearan dentro de ella. Una vez realizada esta actividad se procede a reunir los materiales necesarios para la obtención de las muestras así como también para la seguridad del personal para trabajos a bordo de una embarcación.

Materiales para el estudio de los sedimentos marinos

Para el estudio de los sedimentos marinos son necesarios los equipos y reactivos que se listan a continuación.

Protección personal

- Botas o vadeadores de pescador
- Guantes de látex
- Chaleco salvavidas (Muestreo desde embarcación)
- Delantal para el trabajo en laboratorio

Recolección de Muestras

- Draga o Corer con cierre hermético
- Bolsas con cierre hermético rotuladas.
- Aparato de localización geográfica (GPS)
- 6 Tamices de diferente abertura de malla (escala Wenthworth)
- Balanza analítica de 0,001 gr de precisión
- Estufa
- Desecador
- Cápsulas

Reactivos

- Solución de hexametafosfato de sodio 0.2 N

Metodología y manejo de muestras

La metodología de muestreo y manejo de muestras de acuerdo a la guía de la DGTM y la Res. Exe. N° 3411 se describe a continuación:

- Se reúnen los materiales necesarios para el muestreo y protección personal para los trabajos en el mar. Con la ayuda de un GPS se dirige hacia las estaciones de muestreo.}

- Se lanza la draga o corer de cierre hermético y se sacan un volumen aproximado de 150 gr de sedimento desde los 3 primeros centímetros del mismo.

- Se debe realizar una caracterización organoléptica del sedimento extraído es decir, coloración, textura, olor etc, que es anotada en una bitácora a bordo.

- Las muestras de sedimento son guardadas en bolsas con cierre hermético rotuladas y refrigeradas a una temperatura de 4°C hasta su análisis en laboratorio.

Análisis estadístico de la información

El análisis de las muestras de sedimento de acuerdo a la guía de la DGTM y la Res. Exe. N° 3411 se describe a continuación:

- Es importante destacar que si en las muestras se detecta la presencia de macrofauna bentónica ésta debe ser retirada.

- Las muestras deben ser tamizadas a través de los tamices de diferente abertura de malla en escala Wenthworth que se muestra en la tabla 6.

TABLA 6
ESCALA DE TAMAÑO DE GRANO DE WENTWORTH (1922)

TAMAÑO			TERMINOLOGÍA DE CLASES DE TAMAÑO DE GRANO	
Mm	**µm**	**Phi (Φ)**	**Wentworth 1922**	**Pye, 1994**
2.048		-11	Bloques	Grava
1.024		-10		
512		-9		
256		-8		
128		-7		
64		-6		
32		-5	Guijarros	

16		-4		
8		-3		
4		-2		
2	2000	-1	Gránulos	Arena
1	1000	0	Arena muy gruesa	
0,5	500	1	Arena gruesa	
0,25	250	2	Arena media	
0,125	125	3	Arena fina	
0,063	63	4	Arena muy fina	
0,031	31	5	Limo	Fango
0,016	16	6		
0,008	8	7		
0,004	4	8	Arcilla	
0,002	2	9		

- De los 150 g obtenidos se deben pesar 100 g de sedimento húmedo registrando este valor como peso húmedo.

- Luego, a la muestra de sedimento se le añaden 100 ml hexametafosfato de sodio 0.2 N y se le deja reposar durante unos 30 minutos

- Una vez transcurrido este tiempo, la muestra de sedimento es lavada sobre un tamiz de 0.063 mm de diámetro (o 4 Φ) hasta que corra agua limpia es decir que no caigan restos de sedimento, la diferencia de peso es cuantificada como la cantidad de fango presente.

- La muestra es traspasada a un vaso precipitado y se debe secar en una estufa entre los 100 y 105°C por un período de 8 horas.

- Transcurrido este período, la muestra es colocada en un desecador por 1 hora y se pesa en la balanza analítica. Este procedimiento se repite hasta lograr un peso constante, que se registrará como peso Pre-tamiz.

- La muestra seca o Pre-tamiz es pasada por los 6 tamices de una abertura de malla que va desde -1 a 4 Φ o bien de 2 a 0.063 mm de diámetro. Y la muestra retenida en cada tamiz es pesada en forma separada y esto servirá de base de cálculo para los porcentajes de las diferentes fracciones sedimentarias.

- El peso del fango se calcula por la diferencia entre el peso de la muestra original (100 g) y la sumatoria los pesos registrados en cada tamiz.

- Los datos obtenidos son traspasados a una planilla de calculo electrónica para analizarlos según el método gráfico de acuerdo a la metodología de Folk, 1974. Los pasos a seguir son los siguientes:

1. El peso en gramos de cada fracción se convierte en porcentaje con respecto al total resultante (suma del peso de todas las fracciones); y luego estos porcentajes son sumados progresivamente obteniéndose los porcentajes acumulados.
2. Los porcentajes acumulados son graficados en base a la escala phi mostrada el la tabla 6. Existen distintos métodos de presentación gráfica de los datos: histograma, curva de frecuencia, curva aritmética acumulativa y curva probabilística acumulativa. Si la curva acumulativa se despliega sobre papel de probabilidades, las ventajas son mayores ya que se obtiene una mayor exactitud al momento de extrapolar o interpolar un valor determinado.
3. Con la distribución de los datos que se obtiene se procede a determinar los percentiles por estimación gráfica. Los percentiles que se leen son: 5, 16, 50, 75, 84 y el 95, proyectándolos hasta la curva y luego al eje de las ordenadas, por lo que se encuentran expresados en unidades phi (Φ).
4. Los valores obtenidos para cada percentil son ingresados en una segunda planilla electrónica, en la que previamente se almacenan los algoritmos de las ecuaciones de los parámetros granulométricos con objeto de calcular los valores correspondientes.

Los parámetros estadísticos que describen el tamaño promedio, clasificación, sesgo y curtosis de la distribución de partículas en comparación con el modelo log-normal, pueden ser derivados gráficamente (ploteo de la distribución granulométrica en papel aritmético). Los estadígrafos utilizados para describir la distribución de las partículas son los siguientes.

5. Promedio gráfico: Es utilizado para caracterizar la muestra empleando una única medida del diámetro como medida de tendencia central de la distribución. Su ecuación es la siguiente:

$$Mz = \frac{\Phi 16 + \Phi 50 + \Phi 84}{3}$$ Ecuación 20

6. Clasificación o desviación estándar grafica inclusiva: debido a que la ecuación propuesta para este estadígrafo considera el 90% de la distribución y refleja con mayor representatividad el grado de dispersión, ha sido utilizada ampliamente para los estudios descriptivos de sedimentos. Esta ecuación propuesta por Folk y Ward (1957) representa el promedio de dos desviaciones estándares computadas en dos intervalos distintos de la distribución.

$$\sigma_1 = \frac{\Phi 84 - \Phi 16}{4} + \frac{\Phi 95 - \Phi 5}{6,6}$$ Ecuación 21

Una vez calculado el valor resultante, se aplica una escala (tabla 7) para estimar el grado de clasificación de los sedimentos:

TABLA 7
ESCALA DE CLASIFICACION DE VALORES DE DESVIACION ESTANDAR GRAFICA INCLUSIVA (Folk, 1974).

RANGO	CLASIFICACIÓN
$\sigma 1 < 0,35$	Muy Bien clasificado
$0,35 < \sigma 1 < 0,50$	Bien clasificado
$0,50 < \sigma 1 < 1,00$	Moderadamente clasificado
$1,00 < \sigma 1 < 2,00$	Poco clasificado
$2,00 < \sigma 1 < 4,00$	Mal clasificado
$\sigma 1 > 4,00$	Muy mal clasificado

7. Sesgo o Asimetría gráfica inclusiva: la ecuación promedia los sesgos del sector central de la curva con aquéllos que se presentan en los extremos o "colas".

$$SK_i = \frac{\Phi 16 + \Phi 84 - 2*\Phi 50}{2(\Phi 84 - \Phi 16)} + \frac{\Phi 5 + \Phi 95 + 2*\Phi 50}{2(\Phi 95 - \Phi 5)}$$ Ecuación 22

Los valores que resultan se interpretan de acuerda a la escala de la tabla 8.

TABLA 8
ESCALA DE ASIMETRIA DE DISTRIBUCION DE LOS GRANOS DE SEDIMENTOS (Folk, 1974).

RANGO	CLASIFICACIÓN
- 1,0 ≤ Sk1 < - 0,3	Alto exceso de granos gruesos
- 0,3 ≤ Sk1 < - 0,1	Moderado exceso de granos gruesos
- 0,1 ≤ Sk1 < + 0,1	Simétrica ó granos medios
+ 0,1 ≤ Sk1 < + 0,3	Moderado exceso de granos finos
+ 0,3 ≤ Sk1 < + 1,0	Alto exceso de granos finos

8. Curtosis: es una medida de la proporción entre el grado de clasificación ("sorting") de las "colas" de la curva y el grado de clasificación en la porción central de la misma. Si el sector central de la curva está mejor clasificado que las "colas", entonces la distribución es aguzada o leptocúrtica. En cambio, si la situación es inversa entonces la curva es aplanada o platicúrtica. La ecuación es la siguiente:

$$K_G = \frac{\Phi 95 - \Phi 5}{2{,}44(\Phi 75 - \Phi 25)}$$ Ecuación 23

Los valores resultantes con comparados de acuerdo a la siguiente escala:

TABLA 9
GRADO DE CURTOSIS DE LA DISTRIBUCION (Folk, 1974).

RANGO	CLASIFICACION
KG = 1	Distribución Normal
KG < 1	Distribución Platicúrtica
KG >1	Distribución Leptocúrtica

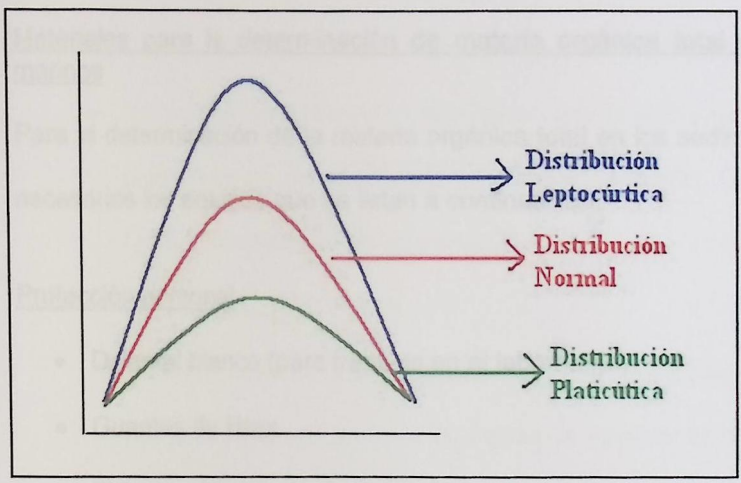


FIGURA 29 MODELO DE LAS DIFERENTES CURVATURAS DE LAS CURVAS O CURTOSIS (Elaboración propia).

Luego, estos resultados son traspasados a un informe final donde son expresados en tablas y diagramas.

DETERMINACION DE MATERIA ORGANICA TOTAL EN SEDIMENTOS MARINOS

Preparación del programa de muestreo

Para la determinación de materia orgánica total se utilizará los que establece la resolución N° 3411 del 2006, donde fija las metodologías para elaborar la caracterización preliminar del sitio (CPS) y la información ambiental (INFA).

Materiales para la determinación de materia orgánica total en los sedimentos marinos

Para la determinación de la materia orgánica total en los sedimentos marinos son necesarios los equipos que se listan a continuación.

Protección personal

- Delantal blanco (para trabajos en el laboratorio)
- Guantes de látex
- Botas o vadeadores de pescador
- Chaleco Salvavidas (para trabajo en el mar

Recolección y análisis de muestras

- Draga o corer con cierre hermético
- GPS
- Bolsas plásticas con cierre hermético rotuladas
- Estufa

- Mufla
- Balanza analítica de 0,001 gr de precisión
- Desecador
- Crisoles (cantidad dependiente del número de muestras)

Metodología y manejo de muestras

La metodología para la obtención de muestras de sedimento para la determinación de la materia orgánica presente en él es el siguiente:

- Se reúnen los materiales necesarios para la obtención de las muestras y protección personal a bordo de una embarcación. Con la ayuda de un GPS se va hacia el área de estudio.

- En cada estación de muestreo, se lanza una draga o corer de cierre hermético para obtener las muestras de sedimento una cantidad de 150 gr. aproximadamente desde los 3 primeros centímetros del mismo.

- Estas muestras son vaciadas en bolsas con cierre hermético rotuladas y refrigeradas a 4°C hasta su posterior análisis en laboratorio.

Análisis estadístico de la información

El análisis de las muestras de acuerdo a la Res. Exe. N° 3411 es el siguiente:

- Una vez que las muestras ya están en el laboratorio, se debe homogeneizar la muestra, es decir revolverla y tomar una submuestra de aproximadamente 10 gr. Y secar a 60 ° C.

- Luego, se procede a tarar los crisoles necesarios, es decir pesarlos sin muestra y registrar este peso y luego pesarlos nuevamente con la submuestras en su interior y registrar este peso.

- Las submuestras son llevadas a una mufla y se deben calcinar a una temperatura de 450°C durante 5 horas.

- Transcurrido este tiempo las submuestras se dejan enfriar en un desecador y una vez frías se pesan nuevamente y es registrado este peso.

- La materia orgánica contenida se calcula por diferencia de peso expresada en porcentaje con 2 decimales. Es decir :

Materia orgánica total= Peso inicial-Peso final

Donde:

Peso inicial: es el peso de las submuestras antes de ser calcinadas

Peso final: peso de las muestras después de ser calcinadas

- La expresión de los resultados debe ser realizada mediante tablas donde se muestre el porcentaje final de materia orgánica total junto con el peso total de la submuestra. Además de la profundidad e identificación de la estación en que se obtuvo la muestra con el correspondiente certificado del laboratorio que analizó las muestras.

PROCEDIMIENTO DE ACREDITACION DE LAS TÉCNICAS DE LABORATORIO EN EL INSTITUTO DE NORMALIZACION

Competencia de los laboratorios de ensayo y calibración

El creciente uso de los sistemas de gestión ha producido un aumento de la necesidad de asegurar que los laboratorios que requieran ser acreditados funcionen de acuerdo a un sistema de gestión de calidad que se considere que cumpla con la norma ISO 9001. Por ello, la norma chilena NCh ISO 17025 en lo que se refiere a los Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración ha incorporado todos aquellos requisitos de ISO 9001 lo que va a llevar que resulte mas fácil que se acepten los resultados de ensayo y de calibración entre países que cumplan con esta norma.

La NCh ISO 17025:2005 (ES) establece los requisitos para la competencia en la realización de ensayos y/o calibraciones, incluido en muestreo. Cubre los ensayos y calibraciones que se realizan utilizando métodos normalizados, no normalizados y los métodos que se desarrollan por el mismo laboratorio y es aplicable a todos los laboratorios, independiente de la cantidad de empleados de la extensión del alcance de las actividades que realice. Esta norma esta prevista para que la utilicen los laboratorios cuando desarrollen los sistemas de gestión, es decir los sistemas de calidad, administrativos y técnicos, también puede ser utilizada por los clientes del laboratorio, las autoridades reglamentarias y los organismos de acreditación cuando confirman o reconocen la competencia de los

laboratorios sin embargo, no esta prevista para ser usada como base para la acreditación o certificación de los laboratorios.

Los requisitos básicos planteados por ésta norma están separados en dos grandes grupos, que son los requisitos relativos a la gestión y los requisitos técnicos.

Requisitos relativos a la gestión

- El laboratorio o la organización de la cual forma parte, debe ser una entidad con responsabilidad legal además de tener un personal directivo y técnico (independiente de otras responsabilidades) que tenga autoridad y los recursos necesarios para desempeñar sus tareas, incluida la implementación, mantenimiento y el mejoramiento del sistema de gestión tomando las medidas respectivas para asegurarse que su gerencia y su personal estén libres de cualquier presión o influencia indebida que pueda perjudicar la calidad de su trabajo. Por otra parte, es un deber del laboratorio tener políticas y procedimientos para asegurar la protección de la información, derechos de propiedad de los clientes, evitar intervenir en cualquier actividad que pueda disminuir la confianza en su competencia o integridad operativa.

- El laboratorio debe establecer implementar y mantener un sistema de gestión apropiado al alcance de sus actividades donde debe documentar sus políticas, sistemas, programas, procedimientos e instrucciones que se aseguren la calidad de los resultados. Es importante destacar que las políticas del sistema de gestión deben estar definidas en un manual de calidad, donde deben estar establecidos los objetivos generales que deben incluir como mínimo el compromiso de la gerencia del laboratorio a tener una buena practica profesional y otorgar una buena calidad en sus servicio junto con el propósito del sistema de gestión concerniente a la calidad donde se compromete a cumplir con la normativa y mejorar la eficacia de este sistema de gestión. Es importante además, que todo el personal se familiarice con esta documentación de calidad.

- El laboratorio debe establecer y mantener procedimientos para el control de todos los documentos que forman parte de su sistema de gestión como la reglamentación, las normas, métodos de ensayos y/o calibración, así como los dibujos, software, instrucciones y manuales y tenerlos identificados con los datos fundamentales para poder ser localizados con facilidad, esto pude ser en formato papel o magnético. Por otro lado, todos los documentos distribuidos entre el personal deben ser revisados y aprobados antes de su emisión, para esto se debe establecer una lista maestra o un procedimiento equivalente de control de la documentación que identifique el estado de

revisión vigente. Si hubiese algún cambio, estos deben ser revisados y aprobados por el mismo cargo que realizó la revisión original y debe tener los antecedentes pertinentes sobre los que basará su revisión y aprobación.

- El laboratorio debe establecer y mantener procedimientos para la revisión de las solicitudes, cotizaciones y contratos. Las políticas y procedimientos para estas revisiones, que den por resultado un contrato para la realización de un ensayo o calibración deben asegurar que los requisitos estén adecuadamente definidos, documentados y entendidos, además que el laboratorio tenga los medios para cumplir estos requisitos junto con la elección de un método de trabajo adecuado.

- Si el laboratorio requiere la subcontratación para un trabajo especifico ya sea por circunstancias no previstas o bien que lo haga en forma continua, éste debe ser un subcontratista que cumpla con todas las normativas en su trabajo. Esta acción debe ser comunicada previamente al cliente y a su vez ser aprobado por éste.

- Dentro de la política, o manual de calidad del laboratorio, se debe especificar el procedimiento de selección, compra y almacenamiento de los servicios y suministros que utiliza y que pueden afectar directamente a la

calidad del servicio. Es por esto que estos suministros y servicios deben cumplir con los requisitos necesarios para dar un servicio de calidad.

- El laboratorio debe estar dispuesto a cooperar con los clientes o sus representantes para aclarar la solicitud del cliente y para realizar el seguimiento del desempeño del laboratorio en relación con el trabajo realizado, siempre que el laboratorio garantice la confidencialidad hacia otros clientes.

- El laboratorio debe tener un protocolo que se implemente cada vez que el trabajo que se realice o bien sus resultados no estén conformes con sus propios procedimientos o con los requisitos acordados con el cliente. Este protocolo debe asegurar que se asignen las responsabilidades y las autoridades para la gestión de trabajo no conforme, para definir y tomar acciones para poder corregir inmediatamente y tomar una decisión respecto a la aceptabilidad de los trabajos no conformes. Si fuera necesario, se debe notificar al cliente y anular el trabajo. Es importante la implementación de acciones correctivas cuando se haya identificado un trabajo no conforme o desviaciones de las políticas y procedimientos del sistema de gestión o de las operaciones técnicas y para esto se debe designar una persona autorizada para por llevar a cabo este proceso.

- Se deben identificar los mejoramientos necesarios y las potenciales fuentes de no conformidades tanto técnicas como relativas al sistema de gestión. Cuando se identifique oportunidades de mejoramiento o se requiera una acción preventiva, se deben desarrollar, implementar y realizar el seguimiento de planes de acción a fin de reducir la probabilidad de ocurrencia de dichas no conformidades y mejorar el servicio.

- El laboratorio debe efectuar auditorías internas para verificar que sus operaciones continúan cumpliendo con los requisitos del sistema de gestión y la normativa.

Requisitos técnicos

- Respecto a los factores humanos, se debe asegurar la competencia del personal como los que operan los equipos, los que realizan los ensayos y/o calibraciones, los que evalúan los resultados y firman los informes y certificados de calibración. El personal que realiza tareas específicas debe estar calificado sobre la base del nivel educacional, la capacitación y/o entrenamiento, experiencias apropiadas y habilidades demostradas, según sea requerido.

- Las instalaciones ambientales que debe tener el laboratorio para los ensayos y/o calibraciones deben ser las óptimas y permitir que se realice un correcto trabajo asegurándose que no se invalide ni se comprometa la calidad requerida de las mediciones. Se deben tomar precauciones especiales cuando el muestreo y los ensayos o las calibraciones se realicen en sitios distintos de la instalación permanente del laboratorio, debe haber una separación eficaz entre áreas vecinas en las que se realicen actividades incompatibles para prevenir la contaminación cruzada. Es importante además controlar los accesos y el uso de las áreas de trabajo para evitar que se perjudique la calidad del servicio. Por otra parte, es importante destacar que se deben controlar y registrar las condiciones del lugar de trabajo en forma permanente.

- El laboratorio debe aplicar métodos y procedimientos apropiados para todos los ensayos y/o calibraciones dentro de su alcance, en éstos incluyen el muestreo, la manipulación, el transporte, almacenamiento y la preparación de los ítems a ensayar o a calibrar. Para la realización de estas actividades el laboratorio debe tener un manual con instrucciones que este accesible para todo el personal del laboratorio.

- El laboratorio debe utilizar métodos de ensayo y/o calibración, incluidos los de muestreo, que satisfagan las necesidades de los clientes y que sean

apropiados para los trabajos que se realizan. Preferentemente la norma recomienda utilizar métodos que hayan sido publicados como las normas internacionales, nacionales o regionales, las realizadas por organizaciones técnicas reconocidas o las que estén contenidas en libros o revistas científicas especializadas. Si el laboratorio decide introducir metodología desarrollada por el mismo debe ser una actividad planificada y asignada a personal calificado, provistos de los recursos adecuados.

- Si el laboratorio utiliza métodos no normalizados cuando sea necesario, éstos deben ser acordados con el cliente y deben incluir una especificación clara de los requisitos del cliente y del objetivo del ensayo y/o calibración y este método además, debe haber sido validado antes de su uso que debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades del tipo de aplicación o del área de aplicación. Para la determinación del desempeño de un método se debería utilizar una comparación con resultados obtenidos con otros métodos que sí estén normalizados o con comparaciones con otros laboratorios y el rango y la exactitud de los valores que se obtienen deben responder a las necesidades de los clientes.

- Los laboratorios deben tener y deben aplicar procedimientos para estimar la incertidumbre de la medición. En algunos casos la naturaleza del método de ensayo no permite un calculo riguroso y estadísticamente valido, de la

incertidumbre de la medición para esto debe tratar de identificar todos los componentes de la incertidumbre y hacer una estimación razonable y debe asegurarse que la forma de informar el resultado no dé una interpretación errónea de la incertidumbre.

- En cuanto a los equipos, el laboratorio debe estar previsto con todos los equipos para el muestreo, la medición y el ensayo, requeridos para dar un correcto servicio sin perjudicar la calidad de los resultados. Estos equipos deben permitir lograr la exactitud requerida y deben cumplir con las especificaciones pertinentes para los ensayos y/o calibraciones concernientes. Cabe destacar que cualquier equipo antes de ser utilizado debe ser revisado o bien calibrados por el personal competente y además que deben tener un documento con las instrucciones de uso, almacenamiento, calibración y mantención de cada equipo y estas deben estar disponibles para todo el personal del laboratorio.

- Por otra parte, para la realización de los muestreo debe haber un plan o procedimientos que deben estar basados en métodos estadísticos apropiados y tiene que tener en cuanta los factores que deben ser controlados para asegurar la validez de los resultados de ensayo y/o calibración. Deben haber procedimientos para e registros de los datos y las

operaciones relacionados con el muestreo que forman parte de los ensayos o las calibraciones que lleva a cabo.

- El laboratorio debe tener procedimientos para el transporte, manipulación, protección, almacenamiento, conservación y disposición final de los ítemes de ensayo y/o calibración incluidas todas las disposiciones necesarias para proteger la integridad de ítem de ensayo y /o calibración así como los intereses del laboratorio y del cliente.

- Es importante tener un protocolo de control de calidad para la verificación de los resultados que se informarán. Es importante que los resultados estén expresados en forma clara de manera tal que permitan detectar tendencias y cuando sea posible, se puedan aplicar técnicas estadísticas para la revisión de los resultados.

- Para informar los resultados es necesario hacerlo en forma exacta, clara, inequívoca y objetiva de acuerdo a las instrucciones específicas de los métodos de ensayo o calibración. Deben estar expresados en un informe o certificado y con toda la información requerida por el cliente y además necesaria para la interpretación de los resultados.

Acreditación de las técnicas de laboratorio de ensayo y calibración

De acuerdo al Instituto Nacional de Normalización (INN), se establece el Reglamento para la acreditación de organismos de evaluación de la conformidad (INN R401) donde se establecen los requisitos y el procedimiento para la acreditación de organismos de evaluación, entre ellos los laboratorios de ensayo y calibración y que son aplicados en el Sistema Nacional de Acreditación del INN. Este reglamento de aplica para la acreditación tanto voluntaria como para quienes se encuentran dentro del área reglamentaria u oficial, cuando así lo establece la reglamentación vigente o en un convenio firmado por el INN y la autoridad reglamentaria respectiva.

Los organismos que soliciten acreditarse, deben cumplir a cabalidad con el reglamento y además con lo señalado en el punto 12.1. Se deberán considerar los requisitos y disposiciones particulares que se encuentren contenidos en normas, reglamentos guías etc., para la aplicación de metodologías de trabajo.

Cabe destacar que todas personas que participen en el proceso de acreditación deben salvaguardar la confidencialidad de la información obtenida durante las etapas del proceso y en todos los niveles del organismo de acreditación.

El proceso de acreditación costa de 10 etapas que serán descritas a continuación.

Inicio del proceso

Los organismos interesados en acreditarse deben obtener las bases de postulación y estas poseen un fórmulario de solicitud de postulación que deberá ser llenado con los antecedentes que se solicitan, además se debe adjuntar la documentación requerida que es detallada en las bases. Estas bases deben ser solicitadas en las dependencias del Instituto Nacional de Normalización o en su sitio web www.inn.cl.

Presentación de la solicitud

Los organismos postulantes deben presentar al INN la solicitud de postulación con el formulario lleno con los antecedentes solicitados junto con una copia controlada del manual de calidad del propio organismo que debe ser completa, actualizada, clara y además se debe acompañar de la documentación respectiva que respalde los datos proporcionados. Al momento de presentar esta solicitud, se deberá cancelar el arancel correspondiente a la revisión documental, según es establecido en INN R410 y que se detalla en la tabla 10.

TABLA 10
ARANCELES DE SOLICITUD DE ACREDITACION DE ACUERDO AL REGLAMENTO INN R410

DESCRIPCIÓN	ARANCEL EN UF
Presentación de la solicitud y antecedentes	20
Arancel base: hasta 15 ensayos o pruebas/áreas	
Arancel adicional:	
• Por 1 área adicional, hasta 10 ensayos	4
• Por segunda área adicional, hasta 10 ensayos	3
• Por tercera área adicional, hasta 10 ensayos	2
• Por cada 5 ensayos adicionales, en cada área	2

La información anexa que es solicitada será revisada por la división de acreditación verificando que este correcta y que no falten documentos. De haber errores o falta de documentación esto debe ser comunicado al postulante en un plazo no mayor a 5 días hábiles.

Revisión de la solicitud y documentación

Para llevar a cabo este procedimiento, la división de acreditación designa un profesional, que será el nexo entre esta entidad y el postulante, y que es presentado a éste dentro de 5 días hábiles.

El informe de la revisión de la documentación presentada por el organismo postulante es enviada 25 días hábiles luego del pago del arancel. Sin la revisión es satisfactoria, se informa al postulante este resultado junto con la fecha de la auditoría que se realizará para seguir el proceso de acreditación. En caso contrario, si se observa que el postulante no cumple con los requisitos para su acreditación, se rechaza la solicitud informándoles a los postulantes sobre las razones de esta determinación. Se considera que no cumplen los requisitos fundamentales cuando ocurre alguna de las situaciones que se enumeran a continuación:

1. El postulante no es una organización legalmente identificable
2. Un laboratorio postulante que no tenga equipos
3. Si el postulante no cuanta con profesionales idóneos
4. El postulante no tiene sistema de gestión
5. Si el postulante ha estado acreditado anteriormente y se le ha cancelado su acreditación por haber cometido infracciones graves

Si es rechazada la solicitud por documentación incompleta o presenta otras no conformidades, la división de acreditación emite un informe que es enviado al postulante con el detalle de las no conformidades y observaciones junto con un plazo para que puedan ser resueltas. En caso que no se cumpla el plazo establecido, el INN dará por terminado el proceso de acreditación y si el postulante

quisiera volver al proceso, deberá presentar su solicitud de postulación pagando e arancel correspondiente que es detallado en la tabla 11.

TABLA 11
ARANCEL DE SOLICITUD DE RE-ACREDITACION DE ACUERDO AL REGLAMENTO INN R410

DESCRPCION	ARANCEL EN UF
Re-presentación de solicitud y antecedentes	8

La división de acreditación debe revisar las acciones correctivas enviadas por el postulante y enviar un informe de levantamiento de no conformidades en un plazo de 25 días hábiles como máximo junto con la fecha de la auditoría que permite continuar con el proceso de acreditación.

Auditoría de acreditación

Una vez levantadas las no conformidades de la revisión documental, la división de acreditación debe enviar el plan de auditoría con una antelación de 10 días hábiles. Si quedan no conformidades pendientes las acciones correctivas se deben verificar durante la auditoría. El postulante tiene un plazo de 5 días hábiles para hacer observaciones por escrito al plan de auditoría, pasado ese plazo se da por aceptado el plan.

La auditoría en terreno debe seguir los lineamientos de la norma NCh 19011 y el procedimiento P407-02. El postulante debe estar operando normalmente durante el período de la auditoría y además haber efectuado una auditoría interna para poder evaluar su operación real.

El equipo de auditoría debe estar conformado de manera que se asegure la competencia técnica en la evaluación del sistema de calidad y de la especialidad considerada en el alcance de la postulación del organismo. El jefe del Equipo auditor debe dar a conocer el informe de auditoría a los representantes del organismo auditado, éste tiene la oportunidad de solicitar la aclaración o reconsideración o bien hacer presente alguna objeción que aporte nuevas evidencias objetivas de las no conformidades no encontradas.

El jefe del equipo auditor puede dar termino a la auditoría en forma anticipada por razones justificadas, previa toma de conocimiento del representante del organismo que se esta evaluando, para esto, debe emitir un informe señalando las razones de suspensión, firmado por él y por el representante del auditado. Las razones para dar término a la auditoría puede ser por las razones que se enumeran a continuación:

1. No cumplimiento de los requisitos fundamentales para la acreditación.
2. Ausencia de personal clave del organismo postulante durante la auditoría
3. Falta de colaboración del organismo auditado con el equipo auditor

4. diferencias o cambios drásticos en la organización respecto a la información entregada con la solicitud.

Junto con el plan de auditoría que es enviado al postulante, se detalla el numero de días que el auditor realizara la actividad, que va a depender del numero tamaño y complejidad de las áreas auditadas, estos días tienen una arancel que es detallado en la tabla 12.

TABLA 12
ARANCEL DE AUDITORÍA DE ACREDITACION DE ACUERDO AL REGLAMENTO INN R410

DESCRIPCION	ARANCEL EN UF
Día auditor/ especialista	12
Cargo fijo: • Auditorías de acreditación • Auditorías de renovación • Auditorías de seguimiento o ampliación • Auditorías de levantamiento de no conformidades	 20 15 7 3

Evaluación del informe de auditoría

El informe de auditoría junto con los otros antecedentes del postulante que serán evaluados por el Comité de Evaluación que se rigen por e procedimiento

P 407-11 y se realizará dentro de un plazo no superior a 20 días hábiles. Si el comité indica que no se han encontrado no conformidades en el informe de auditoría, debe recomendar la acreditación al postulante al Comité de Acreditación. En caso contrario, que sí se encuentren no conformidades, el comité las calificar en críticas mayores y menores y definirá un plazo para que sean resueltas no superior a los 6 meses y si procede, efectuar una auditoría de levantamiento de las no conformidades, una nueva auditoría o si se procede a terminar el proceso de acreditación.

En un plazo no superior a los 5 días hábiles, la División de Acreditación debe comunicar al postulante la calificación de las no conformidades, los acuerdos y observaciones del comité de evaluación, además del plazo concedido para la solución de las no conformidades y si es necesario efectuar una auditoría de levantamiento de las no conformidades o nueva auditoría. En el caso de que el postulante no pueda resolver las no conformidades en el plazo previsto, podrá solicitar una prórroga, mediante una carta dirigida al jefe de la División de Acreditación. Si se sobrepasa todo este tiempo otorgado, se debe realizar una nueva auditoría.

Testificación de actividades

Los organismos de certificación de sistemas de gestión deben evidenciar la aplicación de sus conocimientos cuando efectúan una auditoría de certificación.

Por lo que la División de acreditación debe considerar la observación de auditorías efectuadas por el organismo de certificación, como parte de la auditoría de acreditación.

Decisión de acreditación

Si toda la documentación y auditoría resultan positivas o bien, se hayan solucionado todas las no conformidades, la División de Acreditación presentará un informe al comité de acreditación con todos los antecedentes para tomar la decisión de acreditar al postulante que dará dentro de un plazo no mayor a 20 días hábiles una vez recepcionado el informe.

Comunicación de la decisión de acreditación

El postulante debe recibir una carta certificada firmada por el Director ejecutivo del INN, en un plazo no superior a 6 días hábiles desde su aprobación. Junto con esto, se envía el acta de compromiso para que sea firmada por la organización ya acreditada y devuelta al INN para ser firmada finalmente por el Director ejecutivo que luego, en un plazo no mayor a 10 días, la reenvía al organismo acreditado junto con los certificados que evidencian la acreditación.

El certificado debe identificar el organismo y área acreditada, sede, dirección, el alcance, la fecha de otorgamiento y la vigencia de la acreditación. Además, en el

mismo certificado o anexo a él, se debe indicar en forma detallada el alcance de la acreditación.

Mantención de acreditación

La acreditación de un organismo tiene como plazo 3 años de vigencia cuando es la primera vez que se le otorga, pudiendo renovarse una vez cumplido dicho plazo.

Durante la vigencia de la acreditación se deben efectuar 2 auditorías de seguimiento al organismo acreditado, donde la primera debe ser realizada antes de cumplir 1 año de su acreditación. Además, el organismo de acreditación puede realizar visitas no anunciadas para verificar la operación normal del organismo o en el caso que se reciba algún reclamo.

El organismo acreditado debe informar ante cualquier cambio de su organización, personal, procedimientos o cualquier aspecto que pueda afectar su condición de organismo acreditado, al INN en un plazo no superior a 20 días hábiles. Para realizar tal comunicado, se debe utilizar el formulario de postulación que es solicitado en las oficinas del INN o en su sitio web (www.inn.cl) y adjuntar una carta conductora para identificarse y evaluar su situación.

Durante la vigencia de la acreditación, el organismo deberá pagar un arancel anual que es establecido en el reglamento R410 y se detalla en la tabla 13.

TABLA 13
ARANCEL DE MANTENCION DE ACUERDO AL REGLAMENTO INN R410

DESCRIPCION	ARANCEL UF
Mantención anual base: hasta 3 áreas de ensayo	15
Mantención anual adicional: Por área adicional a partir de la cuarta	3

El organismo acreditado debe informar al INN sobre su intención de continuar en el sistema de acreditación o retirarse, esto debe ser mediante una carta dirigida al Director del INN tres meses antes del término de vigencia de su acreditación. Si se desea la renovación de la acreditación debe enviar la solicitud de renovación, con toda la información solicitada. Esta renovación va a considerar una auditoría para la verificación del cumplimiento de requisitos bajo los cuales fue acreditado originalmente. Esto se debe realizar dentro del período comprendido entre 3 meses antes que caduque la acreditación y 1 mes después del término de la vigencia. Cada renovación de la acreditación debe otorgarse por un período de 4 años. Para la renovación de la acreditación debe pagarse un arancel al momento de presentar la solicitud de renovación que es detallado en la tabla 14.

TABLA 14
ARANCEL DE RENOVACION DE ACREDITACION DE ACUERDO AL REGLAMENTO INN R410.

DESCRIPCION	ARANCEL EN UF
Arancel base	10
Arancel adicional: por cada área adicional	2

Para resumir el procedimiento anteriormente detallado la figura 30 muestra un flujograma con los pasos a seguir al momento de solicitar la acreditación.

Por último, los organismos acreditados deben ser incorporados al directorio que mantiene el INN y difundirlo por los medios que determine más convenientes y efectivos tanto nacional como internacional.

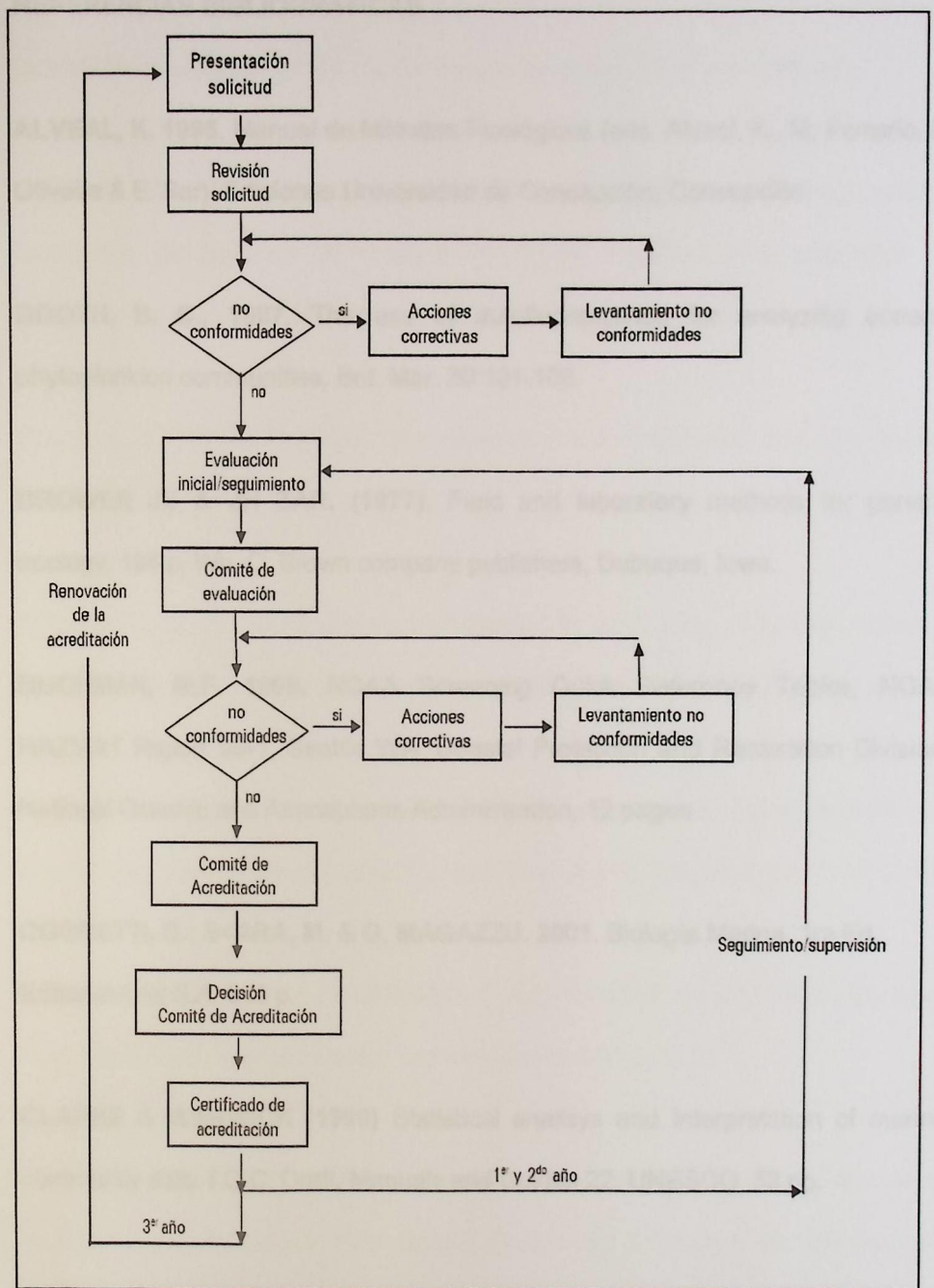


FIGURA 12.1 FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE ACREDITACION (Instituto Nacional de Normalización).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALVEAL, K. 1995. Manual de Métodos Ficológicos (eds. Alveal, K., M. Ferrario, E. Oliveira & E. Sar). Ediciones Universidad de Concepción, Concepción.

BOOTH, B. C., 1987. The use of autofluorescence for analyzing oceanic phytoplankton communities. Bot. Mar. 30:101-108.

BROWER JE & JH ZAR. (1977). Field and laboratory methods for general ecology, 194 p, Wn. C. Brown company publishers, Dubuque, Iowa.

BUCHMAN, M.F. 1999. NOAA Screening Quick Reference Tables, NOAA HAZMAT Report 99-1, Seattle WA, Coastal Protection and Restoration Division, National Oceanic and Atmospheric Administration, 12 pages.

COGNETTI, G.; S<ARA, M. & G. MAGAZZU. 2001. Biología Marina. 1ra Ed., Editorial Ariel S.A. 619 p.

CLARKE & WARWICK (1990) Statistical analisys and interpretation of marine community data. I.O.C. Draft, Manuals and Guides 22, UNESCO, 52 pp.

CLARKE KR, WARWICK RM (1994) Similarity-based testing for community pattern: the 2-way layout with no replication. Mar Biol 118, 167-176.

CONAMA, (1994). Ley Nº 19.300 de Bases Generales de Medio Ambiente.

DGTM y MM (1994). Resolución 12600/323, Términos de Referencia para la realización de Estudios de Impacto Ambiental Acuático para Descarga de Residuos Líquidos en el Medioambiente Acuático de Jurisdicción.

FOLK, R. L. (1974). Petrology of sedimentary rocks. Hemphill Pub. Co. Austin, Texas. 182 pp.

FOURNIER, R. O., 1978. Membrane filtering. In A. Sournia (ed.) Phytoplankton manual. UNESCO, monographs on oceanographic methodology 6:108-112.

GEIDER, R. J., 1987. An improved method for observation and enumeration of heterotrophic and photoautotrophic microplankton. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 110:19-25.

GRENBERG, A. E.; L.S. CLESCERI Y A.D. EATON. (Eds). 1992. Standard Methods for examination of water and wastewater 18th edition.

HOLMES, N.A & A.D. McINTYRE. (1971). Methods for the study of marine benthos. Blacwell Scientific Publicacions, Oxford and Edinburgh. IBP Hanbook Nº 16. 334pp.

INSTITUTO NACIONAL DE NORMALIZACION. (1994ª).NCh 411/3, Guía sobre la preservación y manejo de muestras. 34pp.

JORGENSEN, S.E. 1994. Fundamentals of Ecological Modelling. Developments in Modelling. Elservier.

KREBS CH.J., 1989 Ecological Methodology. HarperCollins, 654 pp.

KRUSKAL, J.B. (1964) Multidimensional scaling by optimizzing Goodnes of fit to a non metric hypotesis. Psychometrica: 29:1-27.

MARGALEF, R. (1974) Ecología. ED. Omega, S.A. Barcelona, 951pp.

ODUM, E. (1972). Ecología, 639 p. Nueva Editorial Interamenricana, S.A. de C.V., Ciudad de Mexico.

ODUM, E. (1972). Ecología, 639 p. Nueva Editorial Interamenricana, S.A. de C.V., Ciudad de México.

PALMA, S y K KAISER (1993) Plancton Marino de Aguas Chilenas. Ed Universitarias. UCV,140pp.

RICCIARDI & BOURGET (1998) Weight-to-weight conversion factors for marine benthic macroinvertebrates. Marine Ecology Progress Series, Vol. 163:245 – 251.

RAMA (2001). Reglamento Ambiental para la acuicultura Nº 320/2001

RODRÍGUEZ L. & R. ESCRIBANO, 1996 Estudios Oceanológicos. 15: 75 - 85.

SHANNON, C Y W. WEAVER (1963). The Mathematical theory of communication. Univ. Illinois Press, Urbana.

SHANNON, C. (1948). Bell Syst. Tech. J., 17:379-423.

UNIVERSIDAD DE PLAYA ANCHA (2002). Antecedentes técnico-científicos para la generación de la norma de calidad secundaria de sedimentos marinos y lacustres. Contrato Nº 21-22-003/0.1.

WENTWORTH, C. (1922). A escale of grade and classterm for clastic sediments. J. Geol., 30(5): 377-392.

ZAR, J.H. (1984). Bioestatistical analysis, Second Edition. Pren tice Hal, Inc., 717 pp

REPUBLICA DE CHILE
MINISTERIO DE ECONOMIA
FOMENTO Y RECONSTRUCCION

REGLAMENTO AMBIENTAL PARA
LA ACUICULTURA

Nº 320

SANTIAGO, 14 de diciembre de 2001

VISTO: Lo informado por la Subsecretaría de Pesca mediante Informe Técnico Nº 62 contenido en el Memorandum Técnico (R. Pesq.) Nº 62 de 20 de julio del 2001 del Departamento de Pesquerías; la carta del Consejo Nacional de Pesca Nº 35 de 23 de agosto del 2001; el Oficio (DDP) Nº 1186 de 24 de julio del 2001 de la Subsecretaría de Pesca dirigido al Consejo Zonal de Pesca de la I y II Regiones de fecha; el Oficio Nº 54 de fecha 31 de julio del 2001 del Consejo Zonal de Pesca de la III y IV Regiones; el Oficio Nº 20 de 10 de agosto del 2001 del Consejo Zonal de Pesca de la V, VI, VII, VIII y IX Regiones e Islas Oceánicas; el Oficio Nº 98 de 23 de agosto del 2001 del Consejo Zonal de Pesca de la X y XI Regiones; el Oficio Nº 54 de 31 de julio del 2001 Consejo Zonal de Pesca de la XII Región y Antártica Chilena; lo dispuesto en la Ley General de Pesca y Acuicultura, Nº 18.892 y sus modificaciones, cuyo texto refundido, coordinado y sistematizado fue fijado por D.S. Nº 430 de 1991 del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción; la Ley Nº 19.300 de 1994, sobre Bases Generales del Medio Ambiente; las facultades que confiere el artículo 32 Nº 8 de la Constitución Política de la República de Chile; la Ley Nº 10.336, los D.S. Nº 175, de 1980, Nº 99, de 1988, Nº 427, de 1989, Nº 550, de 1992, Nº 290, de 1993, Nº 499 y Nº 604, ambos de 1994, todos del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción; el D.S. Nº 1 de 1992 del Ministerio de Defensa Nacional; los D.S. Nº 30 de 1997 y Nº 90 del 2000, ambos del Ministerio Secretaría General de la Presidencia;

CONSIDERANDO:

Que el inciso 1º del artículo 19 Nº 8 de la Constitución Política de la República establece como deber del Estado la tutela de la preservación de la naturaleza.

Que el artículo 74º inciso 3º de la Ley General de Pesca y Acuicultura dispone que la mantención de la limpieza y del equilibrio ecológico de la zona concedida, cuya alteración tenga como causa la actividad acuícola será de responsabilidad del concesionario, de conformidad con los reglamentos que se dicten.

Que el artículo 87º de esa Ley, dispone que se deberán reglamentar las medidas de protección del medio ambiente para que los establecimientos de acuicultura operen en niveles compatibles con las capacidades de los cuerpos de agua lacustres, fluviales y marítimos.

D E C R E T O:

Apruébase el siguiente "Reglamento ambiental para la Acuicultura".

TITULO I
DISPOSICIONES GENERALES

Artículo 1°.-

Las disposiciones del presente Reglamento se aplicarán a todo tipo de actividad de acuicultura, ya sea que ésta se someta al régimen de concesiones de acuicultura, de autorizaciones o requiera simplemente de su inscripción en el registro nacional de acuicultura, en los términos previstos en el artículo 67 de la Ley General de Pesca y Acuicultura. Asimismo, todo aquel que realice actividades de acuicultura quedará sujeto al cumplimiento de las medidas de protección ambiental, que de forma general o particular, se establezcan para un área geográfica, de acuerdo con lo dispuesto en el artículo 87 de dicha Ley, sin perjuicio de lo dispuesto en otros cuerpos legales o reglamentarios.

Artículo 2°.-

Para los efectos del presente Reglamento, se entenderá por:

a) Accidente geográfico: Todas aquellas masas terrestres que toman contacto con el agua bajo la forma de punta, cabo, península, istmo, isla o grupo de islas.

b) Acuicultura: actividad que tiene por objeto la producción de recursos hidrobiológicos organizada por el hombre.

c) Anti-incrustante: sustancia o agente destinado a evitar que organismos acuáticos se fijen a las estructuras artificiales utilizadas en la acuicultura.

d) Área de sedimentación: fondo o zona directamente bajo los módulos de cultivo.

e) Caracterización preliminar de sitio (CPS): determinación de los parámetros y variables físicas, biológicas y químicas del área en que se pretende desarrollar acuicultura.

f) Centro de cultivo o centro: lugar e infraestructura donde se realizan actividades de acuicultura.

g) Condiciones aeróbicas: condición que indica la presencia de oxígeno disuelto en el agua intersticial de los primeros 3 cm del sedimento.

h) Condiciones anaeróbicas: condición que indica la ausencia de oxígeno disuelto en el agua intersticial de los primeros 3 cm del sedimento.

i) Cuerpos de agua terrestres: aguas terrestres superficiales en los términos del artículo 2 del Código de Aguas, ya sean naturales o artificiales.

j) Digestibilidad: es el porcentaje de asimilación que tiene un alimento en el tracto digestivo de un organismo.

k) Efluente: toda descarga de aguas residuales provenientes de centros u otras instalaciones ubicadas en tierra.

l) Ley: Ley Nº 18.892 General de Pesca y Acuicultura y sus modificaciones.

m) Módulo de cultivo o módulo: balsa individual, grupo de balsas unidas, líneas de cultivo o cualquier tipo de estructura utilizada para el confinamiento de los recursos hidrobiológicos.

n) Organismos vivos modificados: cualquier organismo vivo que posea una combinación nueva de material genético que se haya obtenido mediante la aplicación de la biotecnología .

o) Plan de contingencia: conjunto de medidas previstas para evitar o mitigar el daño al ambiente, derivado de la ocurrencia voluntaria o involuntaria de circunstancias extraordinarias al normal funcionamiento de un centro de cultivo.

p) Información ambiental: antecedentes del estado ambiental del centro de cultivo en un momento determinado, basados en la medición de las condiciones del agua, del área de sedimentación y del área circundante a la misma.

q) Servicio: Servicio Nacional de Pesca.

r) Sistema de producción extensivo: cultivo de recursos hidrobiológicos cuya alimentación durante la etapa de engorda se realiza en forma natural o con una escasa intervención antrópica.

s) Sistema de producción intensivo: cultivo de recursos hidrobiológicos cuya alimentación en etapa de engorda se basa principalmente en dietas suministradas antrópicamente y/o en la fertilización de las aguas en que se realiza.

t) Subsecretaría: Subsecretaría de Pesca.

Artículo 3º.-

Para los efectos del presente Reglamento, constituyen instrumentos para la conservación y evaluación de las capacidades de los cuerpos de agua, los requisitos de operación previstos en las normas generales y especiales del mismo, así como la Caracterización Preliminar de Sitio y la información ambiental en los casos en que resulten procedentes.

Asimismo, para los efectos del presente reglamento, se entenderá que se supera la capacidad de un cuerpo de agua cuando el área de sedimentación presente condiciones anaeróbicas.

Artículo 4º.-

Todo centro de cultivo deberá cumplir siempre con las siguientes condiciones:

a) Mantener la limpieza del área y terrenos aledaños al centro de cultivo de todo residuo sólido generado por éste. En ningún caso se podrán eliminar desechos, residuos o desperdicios ni al agua ni a los terrenos circundantes.

b) Disponer los desechos o residuos sólidos y líquidos, incluidos los compuestos sanguíneos y los ejemplares muertos, en depósitos y condiciones que no resulten perjudiciales para el medio circundante. Su acumulación, transporte y disposición final se realizará conforme a los procedimientos establecidos por la autoridad competente.

c) Retirar, al término de su vida útil o a la cesación de las actividades del centro, todo tipo de soportes no degradables o de degradación lenta que hubieren sido utilizados como sistema de fijación al fondo, con excepción de las estructuras de concreto utilizadas para el anclaje.

d) Impedir que las redes, linternas o líneas de cultivo que penden de estructuras flotantes, tengan contacto, en momento alguno, con los fondos. Esta condición no será aplicable a los sistemas de anclajes y mecanismos que fijen estructuras de cultivo al fondo.

e) Contar con sistemas de seguridad adecuados para prevenir el escape de recursos en cultivo.

Artículo 5°.-

En cada centro deberá existir un plan de contingencia, que describa en orden cronológico las acciones a desarrollar en caso de ocurrir circunstancias susceptibles de constituir riesgo de daño o que causen daño ambiental. Dicho plan deberá considerar, a lo menos, los casos de mortalidades, escapes y/o desprendimientos masivos de los organismos en cultivo y las pérdidas accidentales de alimento y/u otros materiales.

Entre las acciones a seguir, el plan deberá comprender como mínimo la recaptura de los individuos, la recolección de materiales y la eliminación de los ejemplares muertos en la forma prevista en el artículo precedente. En el caso de escape de peces desde módulos de cultivo, las acciones de recaptura se extenderán sólo hasta 400 m de distancia desde el módulo siniestrado y por un período de 5 días desde ocurrido éste. En casos calificados, el plazo y área indicados podrán ser modificados por resolución fundada del Servicio, el que no podrá extenderse más allá de 30 días ni a un área superior a 5 km.

Todos los costos que signifiquen la aplicación del plan de contingencia y recaptura de los ejemplares escapados serán de cargo del titular del centro de cultivo.

Artículo 6°.-

El escape o pérdida masiva de ejemplares desde centros de cultivo, así como la sospecha de que haya ocurrido, deberá ser puesto en conocimiento del Servicio y de la Capitanía de Puerto respectiva, por el titular del centro dentro de las 24 horas de su detección. Asimismo, deberá presentarse un informe en el plazo de 7 días de detectado el hecho, incluyendo los siguientes datos:

a) Localidad exacta del escape o desprendimiento, señalando la identificación del centro de cultivo;
b) Especies y razas involucradas;
c) Número estimado de individuos y su peso aproximado;

d) Circunstancias en que ocurrió el hecho;
e) Estado sanitario de los ejemplares escapados;
f) Periodo del último tratamiento terapéutico, señalando el compuesto utilizado, si correspondiere y;
g) Estado de aplicación del plan de contingencia.

Artículo 7°.-

Sólo con la autorización expresa de la Subsecretaría podrán liberarse ejemplares desde centros de cultivo al medio natural. Estas sólo tendrán fines experimentales, de repoblamiento de especies nativas o de apoyo a la pesca deportiva y/o recreativa.

En caso alguno procederá la liberación al medio acuático de organismos vivos modificados u organismos que no se distribuyan habitualmente en el área geográfica en la cual se pretenden liberar, cualquiera sea su etapa de desarrollo.

No se podrán realizar cultivos de organismos vivos modificados, a menos que cuente con autorización expresa de la Subsecretaría.

Artículo 8°.-

Los centros de cultivo ubicados en tierra deberán cumplir con las normas de emisión dictadas en conformidad con el artículo 40 de la Ley N° 19.300 sobre Bases Generales del Medio Ambiente.

Artículo 9°.-

Sólo se podrá realizar la limpieza de los artes de cultivo (linternas, cuelgas, flotadores, etc.) y los lavados de redes con y sin anti-incrustantes en instalaciones que permitan el tratamiento de sus efluentes, los cuales deben cumplir con las normas de emisión fijadas de acuerdo al art. 40 de la Ley 19.300. Los residuos sólidos en ellas generados deben ser dispuestos de acuerdo a lo que estipule la normativa pertinente.

Para realizar la limpieza antes indicada en áreas sometidas a la competencia de la autoridad marítima, se requerirá la autorización expresa de ésta.

TITULO II
DE LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS

PÁRRAFO I
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN EXTENSIVOS

Artículo 10°.-

En los centros autorizados para operar cultivos de fondo y/o praderas de algas, no se podrán utilizar mangas plásticas para la fijación de recursos al sustrato. Sin perjuicio de lo anterior, en los casos de sustratos duros o semi duros, podrá autorizarse por el Servicio el uso de mangas plásticas previa aprobación de un plan de manejo de residuos.

Artículo 11°.-

Los centros de producción extensiva ubicados en porciones de agua y fondo deberán conservar una distancia mínima entre sí de 200 metros y respecto de centros de producción intensiva de 400 metros. Quedarán excluidos de ésta exigencia aquellos centros que se encuentran en la situación prevista en la letra a) del artículo 13 y todos los cultivos de algas.

Artículo 12°.-

Aquellos individuos fijados en colectores de semillas y no usados para fines de cultivo, no deberán ser reingresados a cuerpos de agua. Se exceptúan de esta obligación aquellos cultivos en los cuales no se realice una selección de los organismos fijados.

PÁRRAFO II
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN INTENSIVOS

Artículo 13°.-

Los centros de producción intensiva ubicados en porciones de agua y fondo deberán conservar una distancia mínima entre sí de 2778 metros. La distancia mínima de dichos centros respecto de centros de producción extensivos, deberá ser de 400 metros.

Dichos requisitos no serán exigibles en los siguientes casos:

a) Si entre los límites de ambas solicitudes de concesión y/o concesiones el trazado de cualquier línea recta imaginaria se ve interrumpido por un accidente geográfico, incluso en las más altas mareas.
b) En todo cultivo cuya alimentación se base exclusiva y permanentemente en algas. En este caso la distancia mínima exigible entre centros será de 400 m.

Artículo 14°.-

En los centros ubicados en porciones de agua y fondo de cuerpos de aguas terrestres deberán dar cumplimiento a las siguientes obligaciones:

a) Los salmónidos sólo podrán ser mantenidos en estos centros hasta que hayan alcanzado la esmoltificación. Se exceptúan de esta disposición las especies trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) y trucha café (*Salmo trutta fario*), cuyos ejemplares podrán ser mantenidos en el centro de cultivo hasta alcanzar un tamaño de 300 gramos; los salmónidos reproductores que no sean alimentados y; los salmónidos mantenidos en centros de engorda ubicados en ríos que desemboquen directamente al mar.
b) Se prohibe el uso de anti-incrustantes, que contengan como productos activos elementos tóxicos no degradables o bioacumulables, en redes u otros artefactos empleados en la actividad.

c) Los alimentos que se suministren en los cultivos desarrollados en cuerpos de agua lacustres no podrán contener una digestibilidad inferior al 80% de la materia seca.
d) Instalar sistemas detectores de alimento no ingerido o, alternativamente, sistemas para la captación de dicho alimento y de las fecas. Se exceptúan de esta obligación los centros ubicados en ríos.

TITULO III
DE LA CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE SITIO (CPS) Y DE LA INFORMACIÓN AMBIENTAL

Artículo 15°.-

La CPS será exigible sólo a los proyectos en sectores de agua y fondo que deban someterse al Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental de la ley N° 19.300.

La CPS contendrá los elementos que deberá considerar la autoridad pesquera para evaluar ambientalmente los proyectos y si procediere, otorgar el correspondiente Permiso Ambiental Sectorial.

El titular de un centro de cultivo no podrá superar los niveles de producción informados.

Artículo 16°.-

Tanto los contenidos como las metodologías para elaborar la CPS, serán fijados por Resolución de la Subsecretaría.

Esta Resolución sólo podrá establecer requerimientos relativos a la descripción de la ubicación y topografía del centro, características hidrográficas del sector, número y ubicación de los sitios de muestreo, registro visual del área, información relativa a parámetros y variables ambientales en el sedimento y columna de agua. La Resolución considerará los distintos sistemas de producción y las producciones anuales proyectadas.

Artículo 17°.-

En los casos previstos en el artículo 15, el pronunciamiento ambiental de la autoridad sectorial será favorable sólo cuando la CPS determine que la futura área de sedimentación presenta condiciones aeróbicas.

Es responsabilidad del titular de concesión o autorización de acuicultura que su centro opere en niveles compatibles con las capacidades de los cuerpos de agua lacustres, fluviales y marítimos, para lo cual deberá mantener siempre condiciones aeróbicas en la superficie del área de sedimentación.

Artículo 18°.-

Los proyectos de acuicultura de agua y fondo que se encuentren fuera de los casos previstos en el artículo 15, para obtener la correspondiente autorización o concesión, sólo deberán proporcionar la información relativa a parámetros y variables ambientales en el sedimento a que se refiere la Resolución señalada en el artículo 16.

Artículo 19°.-

Sin perjuicio de lo dispuesto en los artículos anteriores, la información ambiental a que se refiere el artículo 2 letra p), será exigible a todos los centros de cultivo y deberá considerar el sistema de producción y las producciones anuales proyectadas en la época del año de máxima biomasa en cultivo.

La información ambiental deberá ser entregada al Servicio local, el cual remitirá copia del mismo a la Subsecretaría. En caso de inconsistencia técnica en la información ambiental entregada o ante disconformidad entre los antecedentes contenidos en ella y aquellos con que cuente el Servicio, éste podrá exigir información complementaria.

Artículo 20°.-

En el caso de sistemas de producción intensivos, si en el área de sedimentación del centro se detectan condiciones anaeróbicas durante dos años consecutivos, al año siguiente se reducirá en un 30% el número de ejemplares a cultivar, tomando como base el número de ejemplares que ingresó al centro el año anterior. En el caso de sistemas de producción extensivo, al constatarse en el centro en dos años consecutivos la presencia de condiciones anaeróbicas, se disminuirá en un 30% la biomasa inicial de ejemplares o algas a cultivar, según corresponda.

Lo dispuesto en el inciso anterior se aplicará de forma sucesiva mientras no se restablezcan las condiciones aeróbicas.

No obstante lo anterior, si el titular acredita la adopción de metodologías o acciones que permitan operar en las condiciones que establece el Artículo 17, la Subsecretaría, mediante Resolución, podrá autorizar total o parcialmente el reestablecimiento de los niveles productivos.

Artículo 21°.-

Para los efectos de este Reglamento, la CPS y la información ambiental a que se refiere el artículo 19 deberán ser suscritos por un profesional que acredite especialización o experiencia en materias marinas y ambientales.

El Servicio pondrá a disposición de los interesados los formularios para estandarizar la entrega de la información a que se refiere el presente Reglamento.

La Subsecretaría emitirá, con los datos recopilados, un reporte bianual sobre el estado ambiental de la acuicultura.

Artículo 22°.-

La Resolución de la Subsecretaría a que alude el artículo 16 deberá ser revisada, al menos, cada dos años y sometida a consulta de los Consejos Nacional y Zonales de Pesca.

Artículo 23°.-

Las contravenciones al presente Reglamento serán sancionadas conforme a lo dispuesto en el artículo 118 de la Ley.

TITULO IV
DISPOSICIONES TRANSITORIAS

Artículo 1°.-

Los titulares de centros que cuenten con títulos administrativos vigentes, dispondrán del plazo de dos años desde la entrada en vigencia de este Reglamento para dar cumplimiento a sus disposiciones.

Vencido el plazo señalado en el inciso anterior, se deberá entregar la información ambiental conforme lo dispuesto en el artículo 19.

Artículo 2°.-

La distancia mínima entre centros de cultivo extensivos establecida en los artículos 11 y 13, no será exigible a las solicitudes acogidas a trámite por el Servicio con antelación a la entrada en vigencia del presente Reglamento, ni a las que se hubieren otorgado con anterioridad a él.

Artículo 3°.-

La exigencia contenida en los artículos 15 y 18 quedará suspendida en su aplicación hasta que la Subsecretaría dicte la Resolución a que se refiere el artículo 16.

ANÓTESE, TÓMESE RAZÓN Y PUBLÍQUESE

RICARDO LAGOS ESCOBAR
Presidente de la República

JORGE RODRÍGUEZ GROSSI
Ministro de Economía,
Fomento y Reconstrucción

DIRECTIVA ORDINARIO N°___/___.

ARMADA DE CHILE

DIRECCION GENERAL DEL TERRITORIO MARITIMO Y DE MARINA MERCANTE
DIRECCION DE INTERESES MARITIMOS Y MEDIO AMBIENTE ACUATICO

OBJ: ESTABLECE GUIA METODOLOGICA DE REVISION TECNICA SECTORIAL DE ESTUDIOS DE IMPACTO AMBIENTAL EN EL MEDIO AMBIENTE ACUATICO DE JURISDICCION NACIONAL PARA PROYECTOS QUE CONTEMPLAN ***"DESCARGAS DE RESIDUOS LIQUIDOS, DE PUERTOS Y TERMINALES MARITIMOS U OTROS".***

REF: Lo establecido en el Art. 19°, número 8 de la Constitución Política del Estado; el Título 9°, del DL. N° 2.222, Ley de Navegación, del 21 de Mayo de 1978; la Ley N° 19.300, de Bases del Medio Ambiente, del 9 de marzo de 1994; el Decreto Supremo (M) N° 1, del 6 de enero de 1992, que aprobó el Reglamento para el Control de la Contaminación Acuática; el Decreto Supremo (SEGPRES) N°30, del 27 de marzo de 1997, que aprobó el Reglamento del Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA); el Convenio Internacional para la Protección del Medio Marino y Zonas Costeras del Pacífico Sudeste, aprobado por DS. N° 296 del 14 de junio de 1986; el Protocolo para la Protección del Pacífico Sudeste contra la Contaminación Proveniente de Fuentes Terrestres y sus Anexos, aprobado por DS. N°295, del 7 de abril de 1986 y el Decreto con Fuerza de Ley N°292, del 25 de Julio de 1953.

I. ***ESTABLECESE*** *la siguiente Guía Metodológica de Revisión Técnica Sectorial de Estudios de Impacto Ambiental en el medio ambiente acuático de jurisdicción nacional, aplicables a:*

- ***PROYECTOS QUE CONTEMPLAN DESCARGAS DE RESIDUOS LIQUIDOS O SIMILARES****, de cualquier organismo, institución, empresa o industria, fiscal o particular que esté considerando evacuar residuos líquidos o mezclados con sólidos, o actividades similares, cuyo destino final sea el mar, los lagos o ríos navegables o cualquier otro cuerpo de agua que esté bajo la jurisdicción de la Dirección General del Territorio Marítimo y de Marina Mercante (DIRECTEMAR).*[1]

---

[1]: Para efectos de esta Directiva, se entenderá como Cuerpos de Agua de Jurisdicción Nacional "el mar, los lagos navegables por buques de más de 100 TRG o los ríos hasta donde alcanza el efecto de las mareas", de acuerdo a lo establecido en el Artículo 140 bis del Reglamento para el Control de la Contaminación Acuática.

- ***PROYECTOS DE PUERTOS O TERMINALES MARITIMOS*** *en aguas sometidas a la jurisdicción nacional, a los cuales estarán afectos cualquier organismo, institución, empresa o industria, fiscal o particular, que esté considerando efectuar la construcción o modificación de Puertos o Terminales Marítimos, conforme lo establece el Artículo 143, del Reglamento para el Control de la Contaminación Acuática y Artículo 3°, letra f) del Reglamento SEIA.*

- ***OTROS PROYECTOS*** *que puedan significar la generación de impactos en aguas sometidas a la jurisdicción nacional.* [2]

II. ***El estudio*** *señalado en el numeral precedente, deberá contener a lo menos la siguiente información, que se detalla mas adelante:*

1. *Resumen Ejecutivo*
2. *Descripción del Proyecto.*
3. *Línea Base Ambiental.*
4. *Evaluación de Impactos Ambientales.*
5. *Medidas de Mitigación y Planes de Contingencia.*
6. *Programa de Vigilancia Ambiental (PVA) o Monitoreo.*
7. *Apéndice*

1. RESUMEN EJECUTIVO

Se deberá presentar un RESUMEN EJECUTIVO en el que se sintetice y se abarque todo el espectro del estudio, privilegiando las conclusiones globalizadoras del o de los principales impactos y de qué manera éstos serán mitigados.

El Resumen no debe exceder las 30 páginas, siendo autosuficiente permitiendo una lectura fácil por personas no expertas en cuanto a sus contenidos, sin disminuir con ello la calidad técnica del mismo.

Adicionalmente, debe contener:

- *Nombre del proyecto*
- *Identificación del proponente*
- *Descripción del proyecto o actividad y sus objetivos*
- *Tipo y monto de la inversión*
- *Identificación de cada una de las etapas y las principales actividades en cada una de ellas*
- *Plan de cumplimiento legislación aplicable*
- *Línea base (caracterización general del área de influencia)*
- *Descripción de efectos, características o circunstancias del Art. 11 de la Ley que originan la presentación del EIA*

[2] Se exceptúan los proyectos relativos al vertimiento de desechos de dragado, debido a que éstos serán tratados en forma independiente en otra Directiva, especifica para "Dragados".

- *Identificación predicción y evaluación de Impactos (incluidas eventuales situaciones de riesgo)*
- *Plan de medidas de mitigación, reparación y compensación y las medidas de prevención de riesgo y control de accidentes (si corresponde)*
- *Plan de seguimiento y*
- *Conclusiones*

2. *DESCRIPCION DEL PROYECTO.*

Deberán describirse las características principales del proyecto o de la actividad que se propone realizar, como sus alternativas, en especial, aquellos aspectos que puedan producir efectos ambientales en la zona costera y el medio ambiente acuático. Para lo anterior, se deberá considerar la ubicación del proyecto, incluyendo planos topográficos y batimétricos de carácter oficial así como sus objetivos, tipo de carga, forma y frecuencia de transferencia a utilizar, volúmenes proyectados, etc., según corresponda. La descripción en referencia deberá considerar a lo menos los siguientes puntos:

2.1 *Antecedentes Generales*

- *Nombre del proyecto o actividad*
- *Localización y emplazamiento.*
- *Identificación del proponente o titular.*
- *Productos a generar e insumos requeridos.*
- *Demanda de recursos humanos necesarios.*
- *Inversiones y factibilidad técnica y económica.*
- *Objetivos y justificación de la localización.*
- *Definición de partes, acciones y obras física que la componen.*

2.2 *Características de las Descargas. (Proyectos que consideren descarga de residuos líquidos).*

2.2.1 *De los residuos a evacuar al medio receptor.*

Se deberá efectuar una completa caracterización físico, química y microbiológica de los residuos que serán evacuados al cuerpo de agua. Esta caracterización deberá incluir toda la información relacionada con la potencialidad de producir daños o efectos sobre la salud humana, especies hidrobiológicas, comunidades marinas y sobre el ecosistema en general.

Los parámetros que deben ser considerados en los análisis de las muestras serán los señalados a modo referencial en el Código CIIU (Clasificación Industrial Internacional Uniforme), según actividad económica (adjuntos al Anexo I), sin perjuicio que la Autoridad Competente, de acuerdo a los antecedentes disponibles, pueda eliminar algunos o incorporar otros.

Los procedimientos para el muestreo de residuos líquidos domésticos e industriales serán los contenidos en la Norma Chilena Oficial NCh 411/2. Of 96. Calidad del agua - Muestreo - Parte 2: Guía sobre técnicas de muestreo. Nch 411/3 Of 96. Calidad del agua - Muestreo - Parte 3: Guía sobre la preservación y manejo de las muestras y NCh 411/10 Of 97. Calidad del agua - Muestreo - Parte 10: Guía para el muestreo de aguas residuales.

En lo que respecta al análisis de las muestras, se deberá tener presente lo establecido en las Normas NCh N°2313 o en su defecto en la última edición del "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", publicada por la APHA/AWWA/WPCF.

Por otra parte, se deberán incluir, además, los caudales de aguas residuales a evacuar, la naturaleza de los elementos, compuestos, carga microbiana. Los valores deberán ser expresados de acuerdo al Sistema Internacional, tanto en unidades de concentración como de carga.

2.2.2 Bioensayos de Toxicidad

La Autoridad Marítima podrá requerir el uso de bioensayos de toxicidad y determinar las condiciones en que estos se realicen cuando el tipo de actividad y sus residuos líquidos lo aconsejen, para lo cual se deberá determinar la concentración letal (CL50) en 96 horas, u otro parámetro indicador de toxicidad, de las aguas residuales que se contemplan evacuar al cuerpo receptor. Para estos efectos, el titular del proyecto o actividad deberá obtener en laboratorio los residuos líquidos que correspondan o simular sus características y presentará una propuesta a la Autoridad Marítima de elaboración de bioensayos en la que se deberán considerar a lo menos el empleo de especies y métodos estandarizados acordes a los procedimientos internacionales comúnmente empleados o aquellos nacionales que se definan, así como la utilización de especies u organismos marinos o dulceacuícolas característicos o autóctonos del país, en sus estados larvarios, juveniles o adultos, según corresponda.

2.3 Disposición Final de las Descargas o Residuos.

El proponente o titular dará a conocer la forma en la que serán dispuestas las descargas o residuos derivados de las distintas partes, acciones y/o obras involucradas en las etapas del proyecto, así como también el o los sitios propuestos para ello.

3. LINEA BASE AMBIENTAL

Esta etapa es fundamental para la evaluación ambiental del proyecto o actividad deberá contribuir a predecir la naturaleza y magnitud de las transformaciones que sufrirá el medio receptor, tanto durante la etapa de construcción del proyecto o actividad, como durante su funcionamiento y vida útil.

El estudio de Línea Base Ambiental constituye la descripción detallada del área de influencia del proyecto o actividad y de cada elemento del medio ambiente que pueda verse afectado de manera que permita predecir la magnitud, extensión e importancia de los impactos positivos y/o negativos que puedan derivar de la ejecución del proyecto o actividad sobre el medio ambiente, especialmente, del acuático.

A partir de los resultados del estudio de línea base, se deberán identificar los efectos y consecuencias (impactos), que sobre el medio ambiente tendrá la ejecución del proyecto y las estrategias a seguir a objeto de efectuar las modificaciones necesarias, que contribuyan a la mantención de la biodiversidad y a la preservación del patrimonio ambiental.

3.1 Descripción del Area de Estudio

Se debe caracterizar el área en que se contempla desarrollar el proyecto, efectuando trabajos de reconocimiento y de investigación bibliográfica que permitan obtener una síntesis socioeconómica, conocer su uso y como serán afectados, por la intervención directa o indirecta del proyecto en todas sus etapas.

Usos de la Zona Costera.

El interesado deberá entregar información cualitativa y cuantitativa sobre los usos del borde costero existentes en el área, tales como:

- *Zonas de uso turístico y recreacional.*
- *Instalaciones portuarias.*
- *Zonas residenciales.*
- *Instalaciones industriales y de servicios.*
- *Zonas comerciales.*
- *Zonas de pesca comercial y deportiva.*
- *Zona de recolección de recursos hidrobiológicos.*
- *Zonas de cultivos de especies hidrobiológicas.*
- *Zonas de usos múltiples.*
- *Otros usos o actividades relevantes existentes y/o planificadas.*

Esta información deberá registrarse en mapas y/o cartas a escala adecuada teniendo como base aquellas editadas por el Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada (SHOA) y a falta de éstas, aquellas editadas por el Instituto Geográfico Militar (IGM). La ubicación de las instalaciones consideradas en el proyecto así como también los usos identificados en la zona costera deberán detallarse claramente en las cartas aludidas, con sus correspondientes coordenadas geográficas y UTM, según corresponda.

3.2 Recopilación de Antecedentes Ambientales de Carácter Técnico y Científico

El interesado deberá presentar una recopilación de la información disponible acerca de, entre otros, aspectos meteorológicos, oceanográficos y biológicos del área en que se desarrollará el proyecto, a objeto de tener una base sólida sobre la cual planificar los estudios de línea base ambiental.

Deberá reunir y presentar los antecedentes meteorológicos (identificando su fuente), si los hubiese, respecto a intensidad y dirección de los vientos en la zona de estudio. Se deben presentar los antecedentes oceanográficos disponibles, referentes a intensidad y dirección del sistema de corrientes costeras del lugar, altura de olas, mareas, características físico-químicas y biológicas del cuerpo de agua receptor (columna de agua y sedimento), estratificación y variaciones estacionales.

Se recopilarán y presentarán antecedentes sobre estudios biológicos y ecológicos, enfatizando los estudios bentónicos, su distribución espacial y temporal, índices y parámetros ecológicos, antecedentes relevantes sobre reproducción, migraciones, hábitos alimentarios, entre otros.

Asimismo, se recopilarán antecedentes relativos a las normas ambientales de carácter jurídico y técnico ambiental vigentes con la que deberá cumplir el proyecto o actividad.

3.3 Caracterización del Area de Estudio.

La caracterización del área de estudio estará basada en observaciones y mediciones en terreno de las características meteorológicas, oceanográficas y ecológicas de la zona o área que se pretende utilizar para la ejecución del proyecto, las que se realizará en una campaña única de mediciones. Sin embargo, atendiendo a la magnitud, posibles efectos, características o circunstancias del proyecto en relación a notorias fluctuaciones estacionales de la zona costera en las que pudiese estar inmerso el proyecto, la Autoridad Marítima, si los resultados del Estudio así lo recomiendan, incorporara en el Programa de Vigilancia Ambiental o monitoreo las mediciones adicionales que sean necesarias efectuar.

Todas las posiciones de estaciones y mediciones se darán en coordenadas UTM y geográficas, además de ser representadas en mapas o cartas a escala adecuada, junto a la batimetría del sector. Se usará el Sistema Internacional de unidades y las concentraciones de los elementos químicos deberán entregarse en "ppm" (mg/l) o "ppb" (ug/l), según corresponda.

3.3.1 Oceanografía.

3.3.1.1 Viento

Para la correcta interpretación de los resultados que se generen de las mediciones y registros oceanográficos, se deberá medir, en forma simultánea con la campaña de corrientes, vientos "in situ" por un período de 30 días. Los datos obtenidos en terreno de velocidad y dirección del viento se adjuntaran en el Apéndice del informe.

El análisis de estos datos debe enfocarse en definir el efecto del viento sobre las corrientes y la dispersión esperada de los contaminantes derivados en cada una de las etapas involucradas en el proyecto o actividad.

3.3.1.2 Corrientes.

El objetivo de estos estudios es obtener información actualizada sobre el sistema de corrientes costeras en el área de influencia del proyecto, de manera de poder delimitar por ejemplo, la pluma de dispersión en el caso de considerarse la descarga de residuos líquidos en ella, obteniendo una buena estimación de la capacidad de dispersión y dilución natural del cuerpo de agua receptor.

** Euleriana o Fija.*

Se deberá considerar el uso de al menos 2 (dos) correntómetros (registro continuo) fondeados, en un lugar representativo de la dinámica del lugar y del punto de descarga (en el caso de evacuación de residuos líquidos). Estos equipos deberán presentar una serie de tiempo no inferior a 30 días de registro efectivo. Los datos obtenidos en terreno de velocidad y dirección de las corrientes se adjuntaran en el Apéndice del informe.

El análisis de los registros incluirá espectros, que permitan comprender la dinámica (efecto del viento y las mareas), direcciones y probabilidades de ocurrencia, intensidades de los flujos y de sus estadísticas básicas. Deberán comentarse las direcciones más probables de los contaminantes y las más desfavorables ambientalmente hablando, asociadas a probabilidad de ocurrencia.

** Lagrangiana*

Debido al comportamiento lagrangiano de los procesos de dispersión, es fundamental la realización de este tipo de mediciones. El uso de derivadores y trazadores, proveerá de información necesaria para conocer la evolución de la pluma de dispersión, tasas de cambio y coeficientes de difusión en el área, especialmente, en lo relativo a los proyectos que contemple la evacuación de residuos líquidos al medio acuático.

Derivadores

El estudio con derivadores deberá realizarse en 2 (dos) oportunidades durante el mismo mes de mediciones con correntómetro, en un mínimo de 3 (tres) estaciones y en 2 (dos) niveles de profundidad (superficial y subsuperficial), acorde a la batimetría del sector. Los datos obtenidos en terreno, relativos a los posicionamientos registrados en terreno respecto a las trayectorias de los derivadores se adjuntaran en el Apéndice del informe.

El seguimiento se efectuará dentro de un ciclo completo de mareas (12 horas), debiendo registrarse a intervalos de aproximadamente 10 minutos (o acorde al desplazamiento experimentado por los derivadores) la posición de cada derivador mediante un sistema GPS diferencial o en su defecto, mediante corte angular de estaciones de teodolitos en vértices de tercer orden geodésico que permita cuantificar adecuadamente la posición y velocidad de desplazamiento en coordenadas planas (UTM), ligadas a la red geodésica y en consecuencia a la cartografía náutica oficial.

Trazadores Químicos u Otros.

Deberán considerarse estudios de dispersión mediante el uso de colorantes (ej. Rodamina o fluoresceína) en el área del proyecto de manera de analizar en base a ellos, los factores de dilución del cuerpo de agua receptor donde serán emplazadas las instalaciones.

La representación gráfica de estos resultados deberá estar referida a la topografía de la línea de costa (carta náutica) y el punto específico de descarga, con sus correspondientes coordenadas geográficas.

Estos experimentos deberán realizarse como mínimo en 2 (dos) oportunidades, considerando para cada una de ellas un ciclo de marea llenante y vaciante.

Con lo anterior, deberán analizarse cartas de trayectoria, grado de dispersión, efectos del viento y de las mareas sobre la dispersión de los derivadores y/o trazadores y tasas de cambio.

El análisis también incluirá una discusión sobre los escenarios de circulación más probables y más desfavorables desde un punto de vista ambiental.

* Litorales (o de deriva litoral)

Las corrientes litorales, como su nombre lo dice, corresponden a corrientes que se encuentran restringidas a la zona litoral, específicamente, entre la zona de rompiente de las olas y la línea costera, siendo la mayor parte de estas corrientes generadas por la componente paralela a la costa del movimiento de las olas que se le aproximan en forma oblicua, siendo su flujo a lo largo de la costa.

Por ejemplo, al ser las corrientes litorales paralelas a la playa, estas no permiten la salida de los contaminantes que puedan ser descargados directamente en la orilla, o una muy lenta salida de los mismos. Por otra parte, resultan ser importantes en los procesos litorales debido a que ellas fluyen a lo largo de la costa por extensos períodos de tiempo, transportando con ellas los sedimentos puesto en movimiento por la rompiente, por lo cual, toda estructura que sea instalada el la costa, podría ocasionar situaciones de embancamiento.

Dado lo anterior, se recomienda realizar estudios de corrientes litorales en la zona aledaña al emplazamiento del proyecto o actividad, mediante el uso de botellas de deriva u otro similar, con el objeto de medir el flujo promedio asociado al efecto del oleaje en la zona litoral.

Estas mediciones, se efectuarán en 2 (dos) oportunidades en las que se observe la presencia de oleaje y dentro del período considerado para las mediciones de viento. Tanto el número de botellas desplegadas, como de estaciones o puntos de lanzamiento, deberán estar de acuerdo al tamaño y características morfológicas de la zona costera. [3]

Intregación de la Información.

Se debe tener en consideración que la principal finalidad de los estudios de correntometría dentro de la caracterización del área influenciada por el proyecto o actividad, es obtener información actualizada sobre el sistema de corrientes locales, especialmente, en el punto de emplazamiento del proyecto o actividad.

---

[3] Con el objeto de satisfacer los requerimientos que se establezcan en las normas técnicas que defina la CONAMA y en el caso que resultase necesario, el titular o proponente deberá efectuar estudios para definir la Zona de Protección Litoral (ZPL) y/o la distancia de la descarga respecto a las vecinas.

Para lo anterior, el análisis de un problema que involucra corrientes requiere de una necesaria integración de medidas eulerianas (correntómetros), con medidas lagrangianas (derivadores, trazadores químico, botellas de deriva), junto a registros simultáneos de vientos y mareas (nivel del mar), ***in situ****. En consecuencia, se requiere la elaboración de un capítulo que globalice la información obtenida en terreno en términos de análisis de los escenarios de circulación más probables y más desfavorables ambientalmente, junto con determinar los sectores que estarían involucrados en el o los impactos que se puedan derivar de las etapas o acciones del proyecto o actividad.*

3.3.1.3 Estudios de Oleaje.

Respecto a los estudios de oleaje, se deberá observar su propagación en el lugar de emplazamiento del proyecto o actividad y su efecto sobre acumulación de desperdicios en el interior (si corresponde), complementando el análisis oceanográfico del sector.

3.3.1.4 Columna de agua.

El estado de la columna de agua ha de referirse, a las características químicas, físicas y microbiológicas, naturales o de origen, a partir de las cuales se podrá establecer la incidencia que en el agua en estudio, tendrá el nuevo proyecto o actividad involucrada (ej. descargas de residuos líquidos, puertos y terminales marítimos u otros). Para ello, se deberán determinar los parámetros físicos, químicos y microbiológicos de acuerdo a las características de las descargas o residuos que se generen en cualquier etapa del proyecto o actividad. Para lo anterior, considerar lo señalado a modo referencial por el Código CIIU, según actividad económica y lo establecido en la normativa ambiental nacional que se defina, sin perjuicio que la Autoridad Competente, con antecedentes fundados, elimine algunos de ellos o incorpore otros, lo que dependerá de las características particulares del proyecto o actividad.

Junto a los anteriores, deberán determinarse: temperatura (°C), salinidad (psu), contenido de oxígeno disuelto (ml/l) y profundidad del disco secchi (m), en la columna de agua.

El número de estaciones oceanográficas deberá ser consecuente con el tamaño de la zona de influencia del proyecto o actividad y se distribuirán de acuerdo a las características morfológicas del área costera, fluvial y/o lacustre. El análisis tendrá que incluir tablas y perfiles que permitan identificar los patrones de distribución, la variación espacial y distinguir cambios que se produzcan al comenzar a operar el proyecto.

Los análisis químicos deberán incluir el certificado original del laboratorio que los realizó, una breve descripción de la metodología utilizada y el nivel mínimo de detección que permita el método empleado. Para la certificación de su idoneidad, el laboratorio que realice los análisis deberá cumplir, como requisito mínimo, el estar oficialmente reconocido por un organismo fiscalizador estatal como la Superintendencia de Servicios Sanitarios.

Los métodos analíticos y las técnicas de muestreo utilizados en la investigaciones deberán ser los recomendados por el ***Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA)****; sin perjuicio de normas que emita al respecto, el Instituto Nacional de Normalización (INN) en la serie NCh 411, partes 1 a la 9, NCh 2313 u otros organismos competentes.*

En el informe se deberá incluir una relación del número específico del método usado (según manual del PNUMA) y de las consideraciones especiales empleadas: digestión, conservación, diluciones, enrasamientos, equipos, etc. Todo ello con el fin de evaluar la repetitividad de los análisis.

3.3.2 Ecología de Comunidades Biológicas

Para el estudio de línea base ecológica, será obligatorio el análisis de las comunidades que a continuación se mencionan; sin perjuicio que la Autoridad Competente pueda solicitar la incorporación de otras asociaciones, lo que dependerá de las características del proyecto o actividad.

1) la comunidad macrobentónica de fondos blandos submareales.
2) la comunidad macrobentónica de fondos blandos intermareales.

Si tales fondos no se encuentran presentes en el área de estudio, se seleccionará y describirá en su defecto, lo siguiente:

3) la comunidad macrobentónica de fondos duros submareales.
4) la comunidad macrobentónica de fondos duros intermareales.

La selección que se efectúe se deberá justificar por escrito, y considerará los siguientes factores:

- *Condiciones geomorfológicas específicas del área de estudio.*
- *Fuentes contaminantes existentes o potenciales que evacuan residuos en el área y zonas adyacentes.*
- *Extensión espacial de las descargas y de los potenciales agentes contaminantes.*
- *Estado actual del conocimiento sobre la composición, estructura y organización ecológica de las comunidades vegetales y animales del área.*

La metodología y requerimientos mínimos a considerar para los estudios en los distintos hábitats de fondos blandos (arena, fango, etc.) y duros (fondos rocosos), se señalan en las ***Tablas 1 y 2****, respectivamente, adjuntas a la presente Directiva.*

3.3.3 Ecología del Sedimento.

El sedimento constituye el sustrato en el que habitan las comunidades de fondos blandos y con el cual se desarrollan fuertes interacciones ecológicas. Por tal motivo, la alteración de la estructura y composición del sedimento no sólo es importante en cuanto constituye un daño a un patrimonio ambiental, sino y muy especialmente, por que su alteración por la presencia de sustancias alóctonas puede provocar graves daños en la comunidad que sobre o dentro de él reside, al ser transferidos a esta última los efectos de las sustancias contaminantes, ya sea por ingestión del sedimento, contacto físico, formación de complejos o transferencia trófica.

Al mismo tiempo, el sedimento presenta características únicas en cuanto a constituir un buen registro histórico de los eventos o impactos ambientales pasados y su evolución hasta llegar al presente, debido a la característica lentitud con la que ocurren los cambios en esta matriz ambiental.

A modo de ejemplo y relacionando lo anterior con proyectos de Puertos y/o Terminales Marítimos, la caracterización química de los sedimentos constituirá la línea basal para futuros estudios de selección de sitios de vertimiento de los desechos de dragados que sea necesario realizar en éstos.

En consecuencia, junto con los estudios de Ecología de Comunidades Biológicas, se deberá realizar una adecuada caracterización y estudio del sedimento, el cual será obtenido de los mismos lugares o estaciones desde las que se extraigan muestras biológicas. Para estos efectos, se debe considerar lo establecido en la ***Tabla 1****, y lo que se señala a continuación:*

- *Los métodos analíticos y las técnicas de muestreo utilizados en la investigaciones deberán ser los recomendados por el* ***PNUMA****; sin perjuicio de futuras directivas que emita al respecto, ya sea por el INN u otros organismos competentes.*

- *Se deberá trabajar con la fracción fina del sedimento (< 200 um).*

- *Establecimiento de la granulometría, empleando escala Wenworth, efectuando un análisis de los parámetros granulométricos de acuerdo a las metodologías empleadas por Folk (promedio gráfico, desviación estándar gráfica inclusiva y sesgo gráfico inclusivo).*

- *Determinación de al menos, los siguientes parámetros contaminantes, según corresponda a la aplicación del Código CIIU:*

  - *Carbono orgánico total (COT), analizado por combustión u oxidación crómica,*
  - *Metales pesados (Cd, Cr (total y hexavalente), Cu, Hg, Pb, Zn (valores totales de c/u) (métodos válidos : Espetofotometría de Absorción Atómica, Voltametría de redisolución anódica o potenciométrica, empleando la fracción fina (< 200 um) del sedimento (primeros 5 cm, en base seca).*

Asimismo, el análisis de la información obtenida en los numerales 2.3.2 y 2.3.3 deberá tener un carácter integrador, es decir, discutir conjuntamente los resultados de manera acuciosa y exhaustiva, con el objeto de indicar claramente el estado ecológico que presenta el área de influencia del proyecto o actividad, previo a su operación.

TABLA 1

REQUISITOS MINIMOS PARA EL ESTUDIO DE LINEA BASE AMBIENTAL COMUNIDADES MACROBENTONICAS DE FONDOS BLANDOS Y SEDIMENTOS

ACTIVIDADES	*COMUNIDADES BIOLOGICAS FONDOS BLANDOS SUBMAREALES*	*COMUNIDADES BIOLOGICAS FONDOS BLANDOS INTERMAREALES*
MUESTREO	* *Dragados (0,1 m^2 de mordida) (Dragas tipo Van Veen o Smith-McIntyre)* * *Buceo Autónomo: extracción cuantitativa de 0,1 m^2 de fondo mediante succión con "Air lift"*	* *"Corers" de 50 a 100 cm^2 de sección transversal; 15 cm de profundidad en el sedimento* * *Medición de la pendiente de la playa.*
NUMERO MINIMO DE ESTACIONES	* *6 estaciones, mínimo 3 réplicas (posicionadas mediante sistema GPS diferencial o corte angular de puntos de teodolitos en vértices de tercer orden geodésico).*	* *6 transectas perpendiculares a la playa, cada una con 10 estaciones equidistantes a lo largo de cada transecta.*
ANALISIS VARIABLES COLOGICAS	* *Curvas ABC; biomasa expresada en peso seco libre de cenizas (AFDW)* * *Diversidad (índice Shannon-Wienner).* * *Uniformidad y riqueza específica.* * *Clasificación y ordenación estaciones.* * *Similitud (índice Bray-Curtis)*	* *Abundancia* * *Biomasa expresada en peso seco libre de cenizas(AFDW).* * *Diversidad (índice Shannon-Wienner).* * *Uniformidad y riqueza específica.* * *Clasificación y ordenación de estaciones* * *Similitud (índice Bray-Curtis)*
ANALISIS VARIABLES DEL SEDIMENTO	* *Granulometría Escala Wenworth.* * *Análisis químico de los sedimentos, de acuerdo a los vertidos o actividades del proyecto.*	* *Granulometría, escala Wenworth.* * *Análisis químico de los sedimentos, de acuerdo a los vertidos o actividades del proyecto.*

TABLA 2

REQUISITOS MINIMOS PARA EL ESTUDIO DE LINEA BASE AMBIENTAL COMUNIDADES MACROBENTONICAS DE FONDOS DUROS

ACTIVIDADES	*COMUNIDADES BIOLOGICAS FONDOS DUROS SUBMAREALES*	*COMUNIDADES BIOLOGICAS FONDOS DUROS INTERMAREALES*
MUESTREO	* *Cuantitativo o semi-cuantitativo.* * *Fotografía submarina (optativo).* * *Recuento de especies de peces de importancia ecológica y/o económica.* * *Buceo autónomo o semi-autónomo.*	* *Muestreo semi-cuantitativo, destructivo o no destructivo.* * *Parcelas o cuadrículas de 0,25 m^2 reticuladas.* * *Estimación de cobertura de especies macroscópicas.*
NUMERO MINIMO DE ESTACIONES	* *6 transectas, como mínimo, cada una con 10 estaciones equidistantes a lo largo de cada transecta.*	* *6 transectas perpendiculares a la línea de marea, cada una con 10 estaciones equidistantes a lo largo de cada transecta.*
ANALISIS VARIABLES ECOLOGICAS	* *Estimación de cobertura de especies de macroalgas y recuento de especies de la macrofauna.* * *Diversidad (índice Shannon-Wienner).* * *Uniformidad y riqueza específica.* * *Clasificación y ordenación de estaciones.* * *Similitud (índice Jaccard de presencia-ausencia).*	* *Abundancia* * *Biomasa total expresada en peso seco libre de cenizas (AFDW)* * *Estimación de cobertura de especies de macroalgas y recuento de especies de la macrofauna.* * *Diversidad (índice Shannon-Wienner).* * *Uniformidad y riqueza específica.* * *Clasificación y ordenación de estaciones.* * *Similitud (índice de Bray- Curtis)*
CARACTERIZA-CION DE VARIABLES ABIOTICAS	* *Caracterización geomorfológica del sustrato rocoso, grado de inclinación (pendiente) y cobertura de roca desnuda*	* *Caracterización geomorfológica del sustrato rocoso, grado de inclinación (pendiente), exposición al oleaje y cobertura global de roca desnuda.*

4. EVALUACION DE IMPACTOS AMBIENTALES.

Con los antecedentes recopilados y analizados, los resultados del estudio de línea base, los estudios ecológicos y las características físicas, químicas y ecotoxicológicas, de las descargas o residuos que serán evacuados, si procede, se deberán realizar predicciones de mediano y de largo plazo para las etapas de construcción, operación y abandono del proyecto, mediante la respectiva identificación, análisis y evaluación de los impactos que ocasione o pueda ocasionar el proyecto o actividad.

Algunos de los efectos que pueden ser considerados en el sistema marítimo costero y/o acuático, son los siguientes:

- *Modificación de las corrientes costeras y/o litorales.*
- *Embancamientos.*
- *Impacto sobre fauna intermareal.*
- *Impacto sobre bentos submareal.*
- *Zonas de acumulación de basuras por efecto de las corrientes, mareas y/o oleaje.*
- *Riesgos de derrames y efecto de las descargas de desechos, productos o residuos que pongan en peligro la salud de la población y los recursos costeros, marítimos y acuáticos en general.*
- *Peligro de contaminación biológica por aguas de lastre (transmisión de especies exóticas).*
- *Efecto sobre áreas de reproducción y de pesca.*
- *Dilución y dispersión de aguas residuales propias de los puertos, industrias o ciudades cercanas.*
- *Efecto sobre las concesiones otorgadas a terceros, en especial asentamientos de pescadores artesanales o cultivos.*
- *Alteración del entorno marítimo y del paisaje costero (impacto escénico).*
- *Modificación de las características físico-químicas de los sedimentos.*
- *Conflictos de uso en el borde costero.*

Deberán analizarse las acciones del proyecto o actividad y su probable impacto ambiental. El pronóstico se efectuará sobre la base de algún método matricial (Ej. Leopold). A lo anterior, se deberá justificar la selección del método de evaluación utilizado, teniendo especial cuidado en que sea globalizador, selectivo, mutuamente excluyente, objetivo y que permita predecir interacciones subsecuentes e identificar los impactos inaceptables. Además, que considere la magnitud y significado del impacto, especialmente, sobre aquellos elementos del medio ambiente en su condición más desfavorable.

Las conclusiones deberán estar apoyadas en los estudios de línea base, en particular se relacionará dilución y dispersión con la capacidad del cuerpo de agua de recibir las descargas e impacto en playas, ecosistemas, zonas protección especial, etc. Se discutirán los escenarios más probables y desfavorables en cuanto a corrientes, contaminación, bentos y atenuación o magnificación de los impactos negativos del proyecto.

En el caso que un impacto no pueda ser evaluado, entonces se considerara con un carácter cualitativo.

5. *MEDIDAS DE MITIGACION Y PLANES DE CONTINGENCIA.*

Una vez identificados y evaluados cada uno de los impactos que ocasionará el proyecto, el estudio deberá describir las acciones tendientes a minimizar, compensar o eliminar los impactos negativos y atenuar los riesgos de deterioro ambienta, justificando las soluciones propuestas en base a los estudios de corrientes, columna de agua y bentos, efectuados en la Línea de Base.

En consecuencia, se deberán indicar en detalle los sistemas de tratamiento, planes de contingencia y otras medidas que se adoptarán en las fases de construcción y de operación del proyecto, entregando además una carta Gantt con la planificación de la implementación de tales soluciones y el compromiso por escrito de la empresa o actividad en cuanto a su adopción. En particular, se deben considerar las normas de emisión y de calidad ambiental promulgadas a través de la CONAMA.

Para los efectos de cumplimiento de la normativa ambiental, respecto de la descarga o emisión de residuos líquidos a cuerpos de agua de jurisdicción nacional, se deberá adoptar la "Norma Técnica relativa a descargas de Residuos Industriales Líquidos a cuerpos y masas de agua superficiales y subterráneas", de la Superintendencia de Servicios Sanitarios, publicada en Octubre de 1992, que la Autoridad Marítima emplea como herramienta de fiscalización, según lo indicado en la resolución DGTM y MM ORD. N°12600/422 del 1 de diciembre de 1995. , adjunta al ***ANEXO II.****, en tanto no se promulgue la "Norma para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas superficiales", actualmente en tramite en CONAMA.*

En lo que a proyectos de puertos y/o terminales marítimos se refiere, junto a las medidas de mitigación, se deberán informar en detalle los planes de contingencia proyectados por la empresa o actividad, que permitirán reducir los efectos de posibles derrames o pérdidas operacionales u otro tipo de accidentes que puedan ocurrir en la nave o instalaciones del terminal o del puerto y que puedan afectar el ambiente acuático.

En el caso de los proyectos o actividades que contemplan la instalación y empleo de emisarios submarinos para la disposición final de sus vertidos, se deberá considerar de manera especial los resultados del estudio de línea base y de la evaluación del impacto ambiental. La selección tanto del lugar en el cuerpo de agua, como del sitio y profundidad específica en que serán evacuadas las aguas residuales, deberán quedar plenamente justificadas desde el punto de vista de su factibilidad ambiental. Para dicho efecto, se deberán indicar en detalle las características técnicas relativas a: [4]

a) ***Tipo de emisario:*** *Material de construcción, longitud, forma, diámetro, tipo y longitud difusores, y demás características relevantes (descarga de emergencia, sistemas de anclaje, protecciones, etc.).*

b) ***Características de dispersión:*** *Dilución inicial, coeficientes de dispersión.*

c) ***Punto de descarga:*** *Posicionamiento, profundidad, etc.*

d) ***Detalle de los usos del área*** *y la forma en que pueden ser afectados por la descarga.*

---

[4] En virtud de sus atribuciones legales, para los efectos de establecer la forma y lugar en la que deberán ser dispuestos los residuos líquidos mediante el empleo de emisarios submarinos, la Dirección General elaborará una Directiva específica respecto del tema.

6. PROGRAMA DE VIGILANCIA AMBIENTAL (PVA) O MONITOREO.

El usuario planificará un Programa de Vigilancia Ambiental (PVA) o Monitoreo de las condiciones del medio, cuyo objetivo será vigilar las condiciones ambientales del área de influencia, de manera que no se sobrepasen los límites de aceptabilidad establecidos según los criterios de las normas vigentes de calidad del cuerpo de agua (columna de agua y sedimentos), para los distintos usos que se desarrollan en el área afectada. Además, deberá entregar información sobre el comportamiento de aquellos parámetros ambientales, que se estima puedan sufrir alteraciones como resultado de la operación de las instalaciones involucradas en el proyecto, con el objeto de detectar otras alteraciones e impactos no previstos, teniendo en cuenta los antecedentes de línea base y así considerar oportunamente las medidas correctivas más adecuadas.

Las matrices o medios a vigilar y las mediciones a realizar deben contemplar:

1. *Residuos líquidos, incluyendo autocontrol*
2. *Columna de agua*
3. *Sedimentos*
4. *Comunidades bentónicas*
5. *Bioensayos de toxicidad (si procede)*
6. *Mediciones lagrangianas*

La proposición del PVA deberá ser explícito, claro y pragmático, detallando las mediciones y parámetros que serán vigilados, así como la ubicación de las estaciones (representadas en mapa o carda a escala adecuada, junto al posicionamiento en coordenadas geográficas), especies biológicas a monitorear y metodologías a utilizar en el muestreo y análisis químico de las muestras.

En el PVA se indicarán las variables más representativas a monitorear, su justificación y la frecuencia de muestreo, dependiendo de la magnitud e importancia de los impactos identificados.

La mantención y duración del PVA tendrá un carácter permanente mientras el proyecto o actividad se encuentre en su fase operativa.

En lo que respecta a los residuos líquidos, la frecuencia a considerar será a la establecida en la norma que regula los contaminantes asociados a las descargas de estos residuos a aguas superficiales.

Se deberá elaborar en cada campaña, un informe que recopile y compare la información obtenida de los monitoreos anteriores, así como también de los estudios de línea base, efectuando un análisis basado en una discusión acabada acerca de los cambios y tendencias ambientales que se verifiquen en y entre los elementos involucrados en el medio ambiente acuático, cuando corresponda.

7. APENDICES

Incluirá toda la información documentada que sirva de apoyo para la comprensión del estudio, tales como:

a) Informes de laboratorio, legislación detallada atingente al proyecto, estudios específicos, desarrollo de cálculos matemáticos, figuras, tablas, mapas, planos, fotografías u otros.

b) Un listado de los nombres de todas las personas que participaron en la elaboración del Estudio de Impacto Ambiental, incluyendo sus profesiones e indicando las funciones y tareas específicas que desarrollaron.

III. PROCEDIMIENTOS GENERALES.

1. Proyectos de Efluentes Costeros, Puertos y Terminales u Otros.

A contar de esta fecha, todos los proyectos que contemplen evacuar residuos líquidos en aguas de jurisdicción nacional, que proyecten construir algún puerto y/o terminal marítimo en el borde costero o ejecutar otro tipo de proyecto, deberán regirse por lo establecido en el Reglamento que establece el Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA) de la Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), las normas de agua y Directivas complementarias, estando sus obras y acciones sujetas a las disposiciones e inspecciones de la Autoridad Marítima, tal como lo establece el Art. 65 del SEIA.

2. Presentación de un Plan de Trabajo Previo.

*El interesado o titular del proyecto, no se encuentra obligado a presentar previamente su proyecto ante la Autoridad Marítima, menos aún, un **PLAN DE TRABAJO PREVIO** para la ejecución de un Estudio Ambiental Acuático.*

*Para efecto de lo establecido en la presente Directiva, la Autoridad Marítima podrá **RECOMENDAR** la conveniencia de adoptar la Guía metodológica de revisión técnica sectorial aquí establecida para proyectos que tengan contemplado la descarga de residuos líquidos, la construcción de un puerto y/o un terminal marítimo u otros proyectos afines en aguas bajo jurisdicción de la DIRECTEMAR. Sin embargo, el no cumplimiento de lo establecido en estos términos de referencia (internos) no es **DETERMINANTE DEL RECHAZO O MODIFICACION DEL EIA**, sino que ello debe ser analizado caso a caso y evaluado ponderadamente los antecedentes presentados, condiciones existentes y características del proyecto.*

3. Presentación del Informe Final.

El informe final del estudio de Evaluación de Impacto Ambiental será remitido a través de la CONAMA

Regional en un ejemplar, con respaldo magnético (Diskette) en Word 6.0 o 95 a la DIRECTEMAR a través de la respectiva Autoridad Marítima, debiendo contener lo siguiente:

a. INDICE
b. RESUMEN EJECUTIVO
c. INTRODUCCION
d. DESCRIPCION DEL PROYECTO Y CARACTERISTICAS DE LAS DESCARGAS
e. PLAN DE CUMPLIMIENTO LEGISLACION AMBIENTAL
f. DESCRIPCION (PORMENORIZADA) DE EFECTOS, CARACTERISTICAS O CIRCUNSTANCIAS DEL ART. 11 DE LA LEY DE BASES
g. ESTUDIO DE LINEA BASE AMBIENTAL
h. EVALUACION DEL IMPACTO AMBIENTAL
i. PLAN DE MEDIDAS DE MITIGACION, REPARACION Y/O COMPENSACION
j. PLAN DE SEGUIMIENTO AMBIENTAL O PROGRAMA DE VIGILANCIA AMBIENTAL (PVA)
k. DESCRIPCION DE LAS ACCIONES REALIZADAS PREVIAMENTE A LA PRESENTACION DEL EIA
l. APENDICE

Asimismo, se entregara la información o datos numéricos correspondientes a tablas con valores de parámetros, datos oceanográficos, mediciones biológicas, etc., en medio magnético (diskette 3 1/2"), empleando planilla electrónica EXCEL u otra compatible con ésta y el desarrollo del estudio junto a un RESUMEN EJECUTIVO que lo sintetice y abarque todo el espectro del estudio, privilegiando las conclusiones globalizadoras del o de los principales impactos y de qué manera serán mitigados.

4. Requisitos Técnicos de la Consultora.

Se recomienda al titular o proponente del proyecto o actividad que la empresa consultora que realice el EIA, acuático, acredite idoneidad y experiencia de los profesionales que participen en la elaboración del estudio. Por su parte, la empresa y nombrará un profesional responsable del estudio, el que deberá estar en posesión de un grado o título universitario de Oceanógrafo, Licenciado en Biología, Biólogo Marino, Limnólogo o bien, de un grado académico superior con especialidad en Ciencias del mar o limnológicas, (Diplomado, Magister en Ciencias o Doctor en Filosofía) otorgados por una Universidad nacional o extranjera reconocida por el Estado.

5. Revisión y aprobación del estudio.

El procedimiento a seguir en la revisión de los estudios de impacto ambiental y otorgamiento de los permisos ambientales contemplados en los artículos 66 al 71 del Reglamento SEIA, por parte de la Autoridad Marítima Nacional, serán conforme a lo establecido en el Reglamento del SEIA.

IV. *Se recuerda que tal como lo establece la resolución DGTM y MM ORD. N°12600/03PM VRS de fecha 12 de diciembre de 1997,* ***DEJASE SIN EFECTO*** *las resoluciones DGTM y MM ORD. N°12600/323, 324 y 325 del 19 de diciembre de 1994.*

CESAR MORENO POBLETE
CAPITAN DE NAVIO LT.
DIRECTOR DE INTERESES MARITIMOS
Y MEDIO AMBIENTE ACUATICO

ANEXO I

Actividades Económicas según código CIIU.

CIIU	Descripción
11121	Cría de ganado bovino
11123	Producción de leche, excepto acopio
11124	Cría de ganado ovino y su explotación lanera
11125	Cría de ganado porcino
11127	Cría de aves, para producción de carnes y huevos
21001	Explotación de minas de carbón
22001	Producción de petróleo crudo
230 **	Extracción de minerales metálicos
290 **	Extracción de otros minerales
31111	Matanza de ganado
31112	Frigoríficos, excepto los clasificados en código 71921. (Código 71921 corresponde a depósitos y almacenamiento con o sin refrigeración, y otros servicios conexos al transporte, almacenamiento y comunicaciones)
31113	Matanza y conservación de aves
31115	Preparación de fiambres, embutidos y conservas de carnes
31121	Fabricación de mantequilla y quesos, quesillos, crema, yogurt
31122	Fabricación de leche condensada, en polvo o elaborada
31123	Fabricación de helados, sorbetes y otros postres
31131	Elaboración y envasado de frutas y legumbres, incluidos los jugos
31132	Elaboración de pasas, frutas y legumbres secas
31133	Fabricación de dulces, mermeladas, jaleas
31134	Fabricación de conservas, caldos concentrados y otros alimentos deshidratados
31141	Elaboración de pescado, crustáceos y otros productos marinos
31151	Elaboración de aceites y grasas vegetales y subproductos
31152	Elaboración de aceites y grasas animales no comestibles
31153	Extracción de aceites de pescado y otros animales marinos
31154	Producción de harina de pescado
31161	Molinos harineros y elaboración de alimentos de cereales y semillas secas leguminosas
31174	Elaboración de fideos, tallarines y otras pastas
31181	Fabricación y refinación de azúcar

31191 31192	Fabricación de cacao y chocolate en polvo Fabricación de confites, frutas confitadas y toda clase de artículos de confitería
31211 31212 31214	Fabricación de condimentos, mostazas y vinagres Fabricación de almidón y sus derivados Fabricación de levaduras
31221	Elaboración de alimentos preparados para animales
31311 31312	Destilación de alcohol etílico Destilación, rectificación de bebidas alcohólicas
31321 31322	Fabricación de vinos Elaboración de sidras y otras bebidas fermentadas, excepto las malteadas
31331	Elaboración de malta, cerveza y bebidas malteadas
31341	Elaboración de bebidas no alcohólicas y aguas minerales gasificadas y embotellado de aguas naturales y minerales
32113 32114	Tintorerías industriales y acabados de textiles Estampados
3213 32132	Fábrica de tejidos de punto (incluye blanqueo, teñido y acabado) Fabricación y acabado de tejidos de punto, cuando incluyan blanqueo y teñido
32311	Curtiduría y talleres de acabado
32321	Preparación y teñido de pieles
33111	Aserraderos
34111 34112	Fabricación de pulpa de madera Fabricación de papel y cartón
3419	Fabricación de artículos de pulpa, papel y cartón
34201 34202 34204	Imprenta y encuadernación. (Sólo las que usan tinta) Fotograbado y litografía Editoriales
35111	Fabricación de productos químicos industriales básicos, orgánicos e inorgánicos
35121 35122	Fabricación de abonos Fabricación de plaguicidas, insecticidas, fungicidas y herbicidas
3513	Fabricación de resinas sintéticas, materias plásticas y fibras artificiales, excepto el vidrio
35211 35212	Fabricación de pinturas, barnices, lacas, esmaltes y charoles Fabricación de productos conexos al CIIU 35211
35221	Fabricación de productos farmacéuticos y medicamentos
35231 35232	Fabricación de jabones, detergentes y champús Fabricación de perfumes, cosméticos, lociones, pasta dentífrica y otros productos de tocador

35291	Fabricación de ceras
35292	Fabricación de desinfectantes y desodorizantes
35293	Fabricación de explosivos y municiones
35294	Fabricación de colas, adhesivos, aprestos y cementos
35296	Fabricación de tintas
35301	Refinería de petróleo
35401	Fabricación de materiales para pavimento y techado a base de asfalto
35402	Fabricación de briquetas de combustibles y otros productos derivados del petróleo y del carbón
35511	Fabricación de llantas, cámaras y neumáticos
35601	Fabricación de productos plásticos diversos no clasificados en otra parte
3610	Fabricación de objetos de barro, loza y porcelana
36201	Fabricación de vidrios planos y templados
36202	Fabricación de espejos y cristales
36204	Fabricación de parabrisas y vidrios para vehículos
3691	Fabricación de productos de arcilla para construcción
36915	Fabricación de material refractario
36921	Fabricación de cemento, cal, yeso y tubos de cemento
3699	Fabricación de productos minerales no metálicos, n.e.p.
3710	Industrias básicas de hierro y de acero
37201	Fabricación de productos primarios de metales no ferrosos
3721	Industrias básicas del cobre
3722	Industrias básicas del aluminio
3901	Fabricación de joyas y artículos conexos
3903	Fabricación de artículos de deporte y atletismo
3909	Industrias manufactureras, n.e.p.
38121	Fabricación de muebles y accesorios principalmente metálicos
38196	Esmaltado, barnizado, lacado, galvanizado, chapado y pulido de artículos metálicos
38211	Fabricación y reparación de motores, turbinas y máquinas de vapor y de gas, excepto calderas
38323	Fabricación de discos, cintas magnéticas, cassettes
38326	Fabricación de aparatos y válvulas de radiografías, fluoroscopía y otros aparatos de rayos X
38332	Fabricación de planchadoras, ventiladoras, enceradoras y aspiradoras y otros aparatos y accesorios eléctricos de uso doméstico
38392	Fabricación de ampolletas, tubos eléctricos, focos, pilas eléctricas, linternas
38411	Astilleros
38421	Construcción, reparación y modificación de maquinaria y equipo ferroviario

38431 38432	Construcción, montaje, reconstrucción y reformas de vehículos automóviles Fabricación de piezas y accesorios para vehículos automóviles tales como motores, frenos, embragues, cajas de cambio, transmisiones, ruedas y chasis
38441	*Fabricación de bicicletas y motocicletas y sus piezas especiales*
38451	*Fabricación de aeronaves y sus partes*
38512	*Producción de instrumentos y suministros de cirugía general, cirugía dental y aparatos ortopédicos y protésicos*
41011	Generación, transmisión y distribución de electricidad
41021	Producción y distribución de gas
61127	Comercio al por mayor. Corretaje de ganado
61561	Importadores y distribuidores de automóviles, camiones y camionetas, motos, repuestos accesorios
62536	Estaciones de servicio (venta de bencina, lubricantes, servicio de lavado, engrase, etc.)
71111 71112	Transporte ferroviario y servicios conexos Construcción y reparación del material rodante y mantenimiento de infraestructura
92001	Rellenos sanitarios
9320	Institutos de investigaciones y científicos
93312 93315	Hospitales, sanatorios, clínicas y otras instituciones similares Laboratorios médicos, tecnológicos médicos
93322	Clínicas veterinarias
94111	Producción de películas cinematográficas
95131	Reparación de automóviles y bicicletas
95201	Lavanderías y tintorerías
95921	Estudios fotográficos

**** Correspondiente a la Agrupación.**

ANEXO II

RES. DGTM Y MM ORD. N°12600/422/VRS DEL 1 DE DICIEMBRE DE 1995. (DISPONE MEDIDAS PARA EL CONTROL DE LA CONTAMINACION ACUATICA)