

Research Article

Determinación y evaluación de los componentes presentes en las pinturas anti-incrustantes utilizadas en la acuicultura y sus posibles efectos en sedimentos marinos en el sur de Chile

Rodrigo Vera¹, Cristián Duarte², Elías Pinilla¹, Vladimir Murillo¹
Marina Oyarzún¹ & Géscica Aroca¹

¹Departamento de Medio Ambiente, División de Acuicultura

Instituto de Fomento Pesquero Balmaceda 252, Puerto Montt, Chile

²Departamento de Ecología y Biodiversidad, Facultad de Ecología y Recursos Naturales
Universidad Andrés Bello, Santiago, Chile

Corresponding author: Rodrigo Vera (rodrigo.vera@ifop.cl)

RESUMEN. Se realizaron muestreos de sedimento en tres áreas relacionadas con el uso de pinturas anti-incrustantes en la salmicultura en el sur de Chile, con el fin de detectar alteraciones en la abundancia o diversidad de la macrofauna bentónica debidas a la acumulación de metales como Cu y Zn en los sedimentos. Los resultados muestran que existe acumulación especialmente de Cu en los sedimentos aledaños a las balsas jaulas de cultivo, pero no se apreciaron variaciones significativas en la composición ni en la abundancia de la macrofauna bentónica asociada a estos centros de cultivo, aun cuando las concentraciones de Cu superaron los 800 $\mu\text{g g}^{-1}$ en el sedimento.

Palabras clave: metales, anti-incrustantes, sedimentos, macrofauna, biodiversidad, salmicultura, sur de Chile.

Identification and evaluation of components present in antifouling paints used in aquaculture, and its possible effects on marine sediments of southern Chile

ABSTRACT. Sediment samples were taken in three areas related to the use of antifouling paints in salmon farming in southern Chile, in order to detect changes in the abundance and diversity of benthic macrofauna due to the accumulation of metals such as Cu and Zn in sediments. The results show that if there especially Cu accumulation in sediments adjacent to cages each crop, but there were no significant changes in the composition or abundance of benthic macrofauna that accompanies these farms, even when concentrations Cu exceeded 800 $\mu\text{g g}^{-1}$ in sediments.

Keywords: metals, antifouling, sediments, macrofauna, biodiversity, salmiculture, southern Chile.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura, al igual que la industria naviera, presenta problemas con la adherencia de fouling o incrustaciones biológicas en las estructuras de cultivo (redes de cultivo y redes loberas), que ocasiona, entre otras dificultades, aumento en la superficie de contacto de la red, provocando disminución en el flujo de agua que pasa a través de ella, con la consecuente baja de oxígeno disponible para los peces en cultivo (Lovegrove, 1979; Braithwaite *et al.*, 2007). Por otra parte, puede actuar como reservorio de patógenos y aumentar el peso de la red, cabos, boyas, entre otros componentes del sistema, lo que hace que pierda flotabilidad y cambien las condiciones técnicas de

fondeo con que fueron diseñadas (Konstantinou & Albanis, 2004).

La necesidad de efectivos anti-incrustantes en estructuras sumergidas tales como balsas-jaulas, anillos de soporte y otros componentes es reconocida universalmente. Por muchos años el tributil-estaño (TBT) fue uno de los principios activos más usados en el mundo para la fabricación de pinturas anti-incrustantes (Ernst *et al.*, 1991; Thomas, 2001; Thomas & Brooks, 2010) pero debido a su fuerte impacto en los ecosistemas acuáticos se ha regulado internacionalmente (EPC, 1998), dando paso a una nueva generación de alternativas, principalmente basadas en el óxido cuproso (Cu_2O), pero que se acumula en sedimentos finos y anóxicos (Brooks & Mahnken, 2003),

combinado con biocidas orgánicos (Burrige *et al.*, 2010). Consecuentemente, altas concentraciones de estas sustancias han sido encontradas en estuarios y bajo balsas-jaulas de salmónes y no existe suficiente información para evaluar el riesgo ambiental que puedan provocar. Estas alternativas también pueden ser tóxicas y son incorporadas al sedimento, encontrándose las mayores concentraciones bajo los centros de cultivo y disminuyendo a medida que se alejan de las balsas-jaulas o trenes de cultivo (Burrige *et al.*, 2010).

Diversos estudios demuestran que los organismos marinos varían en su acumulación y tolerancia a los metales traza, debido en parte a las vías de captación, asimilación y capacidad de regulación. No obstante, la toxicidad de los metales en estos organismos se ve influenciada por factores bióticos como edad, sexo y tamaño del organismo afectado (Sneddon & Tremblay, 2011).

Según Bravo *et al.* (2005) en las pinturas utilizadas en la salmonicultura de la zona sur de Chile, el biocida más utilizado como compuesto activo anti-incrustante, es el óxido cuproso. Su efectividad se basa en su amplio espectro de prevención, actuando como alguicida y anti-incrustante en general. Sin embargo, también existen pinturas anti-incrustantes de última generación “sin cobre”, elaboradas con biocidas orgánicos.

De acuerdo a lo anterior surge la interrogante de cómo estos compuestos antifouling y en especial el Cu, afectan la biota de los sedimentos asociados a las balsas-jaulas dedicadas al cultivo de salmónidos y la manera en como estos elementos se distribuyen, depositan y permanecen, pudiendo alterar las tramas tróficas asociadas y la consecuente actividad en un ecosistema sensible del sur de Chile.

MATERIALES Y MÉTODOS

La identificación del principal principio activo de las pinturas anti-incrustantes utilizadas en la salmonicultura en Chile fue realizada mediante un catastro exhaustivo de las empresas distribuidoras, importadoras, talleres de impregnación y salmoneras. Muestreos y análisis de metales pesados en sedimento asociados a centros de cultivo fueron realizados en tres sectores de la isla de Chiloé durante la primera semana de noviembre de 2012 (Fig. 1): sector Curaco de Vélez (42°25'56"S, 73°37'31"W), sector Bahía Lin Lin (42°24'19"S, 73°27'42"W) y sector Llingua, Punta Lonhui (42°26'17"S, 73°26'32"W). Las tres áreas de muestreo están asociadas a centros de cultivo de salmónes que usan redes impregnadas con diversos tipos de pintura anti-incrustante. En cada sector se muestreó con draga de 0,1 m² de mascada, 15

estaciones, con cinco réplicas cada una, cuatro dedicadas al análisis de metales pesados en sedimentos y una quinta dedicada al análisis de la macroinfauna de los sedimentos. Las muestras de metales pesados se guardaron en bolsas plásticas, se congelaron y se analizaron mediante espectrofotometría de absorción atómica en los laboratorios de CESMEC para los metales Cu, Zn, Cd, Al, Sb y Pb, y los análisis de la macroinfauna se realizaron en el Instituto de Fomento Pesquero, siendo tamizadas a 1.000 μ , identificadas hasta el nivel más cercano a especie y cuantificadas, obteniéndose la abundancia e índice de diversidad de Shannon-Weaver (H').

Para comparar las concentraciones de metales en los sedimentos entre las tres áreas en estudio, se realizaron análisis de Kruskal-Wallis (datos no normales) (Sokal & Rohlf, 1995), y los siguientes análisis multivariados: i) escalamiento multidimensional no métrico (EMDNM), el cual permitió visualizar la similitud en la concentración de los elementos anti-incrustantes en cada sitio de muestreo. Para esto se calculó una matriz de similitud mediante la distancia Euclidiana. Los resultados de los análisis de EMDNM se graficaron en dos dimensiones. En este tipo de gráficos, las estaciones que muestran mayor similitud aparecen menos distanciadas entre sí. Valores de “stress” <0,1 indican una buena representación gráfica del ordenamiento de las estaciones, mientras que valores de “stress” >0,2 indican lo contrario (Clarke, 1993); ii) porcentaje de similitud faunística (SIMPER “SIMilarity PERcentages-species contribution”) entre las distintas áreas de muestreo. Finalmente, se realizó la prueba de ANOSIM (Analysis of Similarities). Este análisis es similar al análisis de varianza, pero ha sido desarrollado para datos multivariados, y permite evaluar si las diferencias observadas en los gráficos de los análisis de EMDNM fueron significativas o no. La metodología de cálculo del SIMPER fue similar a aquella utilizada en el EMDNM (Carr, 1997). Para evaluar si el contenido de elementos anti-incrustantes presentes en el sedimento tienen algún rol significativo para explicar la abundancia, composición y distribución de la macrofauna, se realizaron análisis estadísticos de regresión múltiple y BIO-ENV. Las variables físicas fueron sucesivamente agregadas al modelo predicho en el BIO-ENV para mejorar el coeficiente de correlación. Para evaluar la colinealidad entre algunas variables ($r > 0,95$) se realizó el análisis de correlación de Pearson antes de realizar el test de BIO-ENV. Esta aproximación metodológica permite evaluar si los elementos anti-incrustantes están relacionados con las abundancias poblacionales y estructura comunitaria de la fauna asociada a estos fondos. Adicionalmente, se graficaron mediante el método del vecino más cercano las concen-

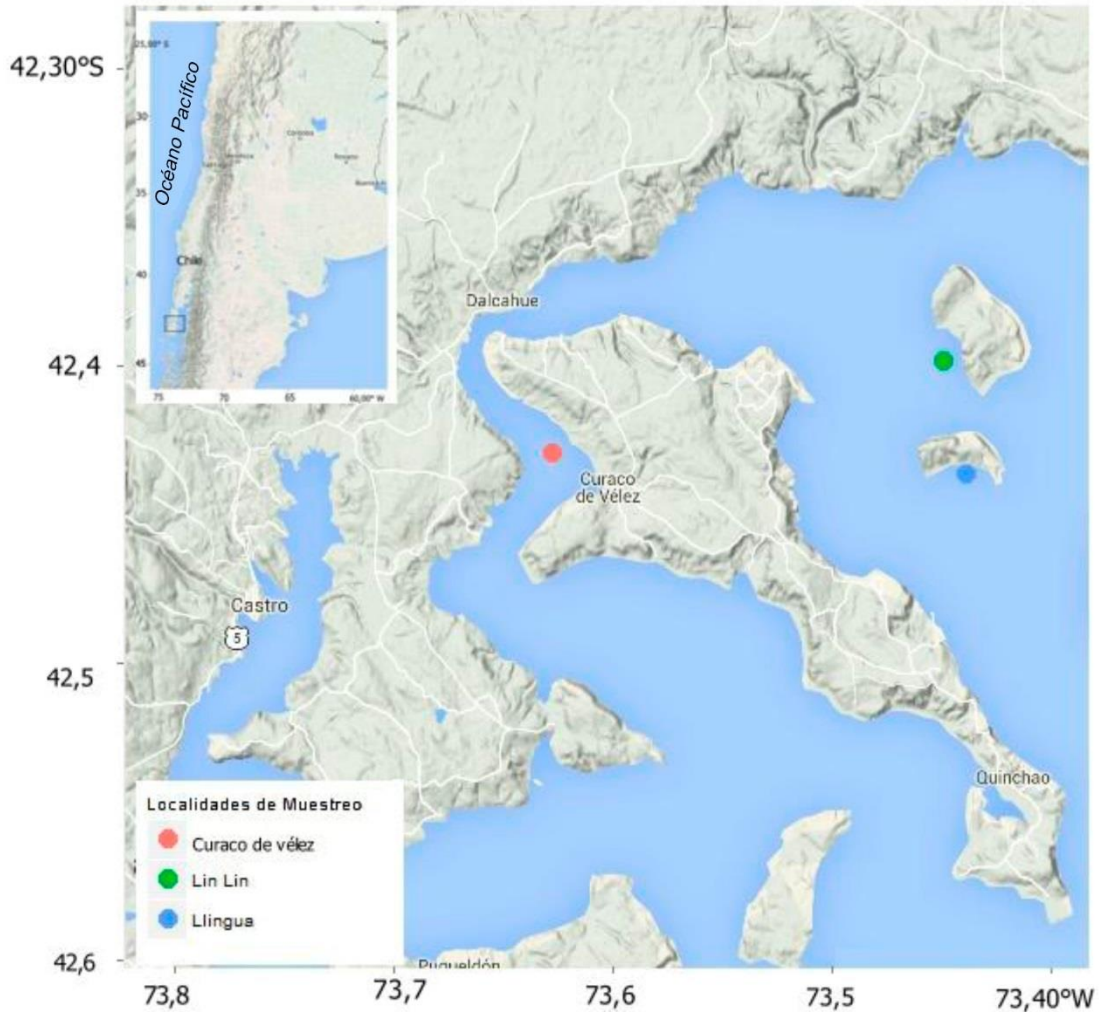


Figura 1. Ubicación de los sectores analizados en Chiloé Central.

traciones de los metales Cu, Zn y materia orgánica, detectadas en los centros de cultivo.

RESULTADOS

El análisis mostró que casi la totalidad de las pinturas anti-incrustantes usadas en Chile, contienen como principio activo óxido cuproso y solo una marca utiliza otro tipo de principio activo, diciendo ser amigable con el medio ambiente. Esta última pintura anti-incrustante sin cobre, se incluye dentro de las presentadas en la Tabla 1.

Sector Curaco de Vélez

Parámetros biológicos

En promedio, los valores más altos de riqueza de especies y abundancia total se registraron en las estaciones localizadas en los vértices de las balsas. La estación control y aquellas localizadas a 100 m de las balsas presentaron valores similares de esos atributos

comunitarios. En promedio, los valores más altos de diversidad ocurrieron en las estaciones localizadas más cerca de las balsas, mientras que los más bajos ocurrieron en promedio en las estaciones ubicadas a 100 m de las balsas (Fig. 2, Tabla 2).

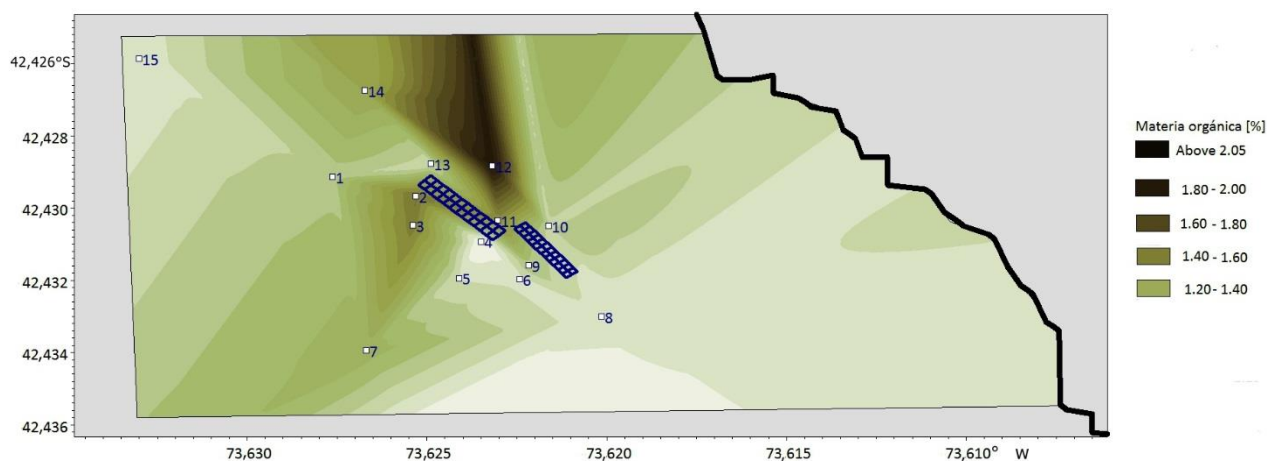
El análisis EMDNM realizado en base a la riqueza y abundancia de la macrofauna, mostró una separación de las estaciones localizadas en los vértices de las balsas con aquellas localizadas a 100 m de las mismas (Fig. 3). Esto sugiere que la estructura comunitaria entre ambos grupos de estaciones es diferente. La estación control se observó similar a las estaciones localizadas en los vértices de las balsas de cultivo.

Metales

De los seis metales pesados estudiados en Curaco de Vélez, el Sn, Cd y Pb presentaron los mismos valores en todas las estaciones de muestreo, con concentraciones que estuvieron siempre bajo los límites de detección del análisis correspondiente; esto es $<5 \mu\text{g g}^{-1}$,

Tabla 1. Concentración de Cu₂O, Zn, Sb, Cd, Al, Pb en 14 muestras de pinturas anti-incrustantes que se comercializan en Chile. nd: no detectado.

Muestra	Cu (% base natural)	Cu (% base seca)	Cu ₂ O (% base natural)	Cu ₂ O (% base seca)	Zinc (%)	Estaño (%)	Cadmio (%)	Aluminio (%)	Plomo (%)
1	0,17	2,82	0,38	0,86	nd	nd	nd	nd	nd
2	0,01	1,16	0,02	0,04	0,00	nd	nd	nd	nd
3	10,18	23,65	22,90	51,53	0,02	0,0028	nd	0,03	0,01
4	0,00	0,01	0,00	0,01	nd	0,0007	nd	nd	nd
5	0,72	5,77	1,62	3,65	0,00	0,0010	nd	nd	nd
6	0,06	1,44	0,14	0,32	nd	nd	nd	nd	nd
7	2,32	8,94	5,22	11,75	0,01	0,0036	nd	0,01	0,001
8	1,13	3,30	2,55	5,74	0,97	0,0009	nd	0,43	0,001
9	0,05	0,58	0,11	0,26	0,01	nd	nd	nd	nd
10	2,56	7,48	5,77	12,97	0,70	nd	nd	0,14	nd
11	0,07	0,18	0,17	0,37	0,90	0,0008	nd	0,64	nd
12	1,01	7,34	2,27	5,10	0,00	nd	nd	0,00	nd
13	0,01	0,41	0,01	0,03	0,01	nd	nd	nd	nd
14	0,00	0,31	0,01	0,02	nd	nd	nd	nd	nd

**Figura 2.** Distribución de las estaciones de muestreo en el sector Curaco de Vélez y porcentaje de materia orgánica en sedimentos. En línea continua negra el tren de balsas jaulas en su ubicación actual. En línea punteada la ubicación ante 356 año 2009.**Tabla 2.** Atributos comunitarios de la macrofauna estimados en 15 estaciones del sector Curaco de Vélez.

Estación	Abundancia total (ind m ⁻²)	Riqueza de taxa	Diversidad de especies (H')
E1	30	1	0,000
E2	70	5	0,673
E3	70	3	0,346
E4	50	4	0,579
E5	60	5	0,678
E6	180	8	0,794
E7	140	7	0,786
E8	50	3	0,413
E9	60	4	0,540
E10	40	4	0,602
E11	110	5	0,638
E12	40	1	0,000
E13	80	5	0,602
E14	30	3	0,477
E15	40	3	0,452

<2 µg g⁻¹ y <5 µg g⁻¹, para Sn, Cd y Pb, respectivamente (Tabla 3). Por lo tanto, estos metales no fueron incluidos en los análisis posteriores.

Las concentraciones de Cu presentaron valores promedios extremos de 45 µg g⁻¹ y 9 µg g⁻¹ (estación 10 y estaciones 2, 5 y 15, respectivamente) (Tabla 3, Fig. 4). La máxima concentración de Zn ocurrió en la estación 10 (48 µg g⁻¹) y la menor en las estaciones 5 y 8 (31 µg g⁻¹) (Tabla 3, Fig. 4). El menor porcentaje Al se registró en la estación 5 (1,50%) y el mayor se registró en la estación 6 (1,79%) (Tabla 3). Los análisis de Kruskal-Wallis mostraron que los contenidos significativamente más altos de Cu ($P = 3,274e-06$) y Zn ($P = 2,022e-05$) se registraron en los sedimentos de las estaciones 9, 10, 11 y 13; mientras que los valores de contenido de Al ($P = 0,0016$) fueron, más similares entre las distintas estaciones de muestreo, pero significativamente diferentes entre sí.

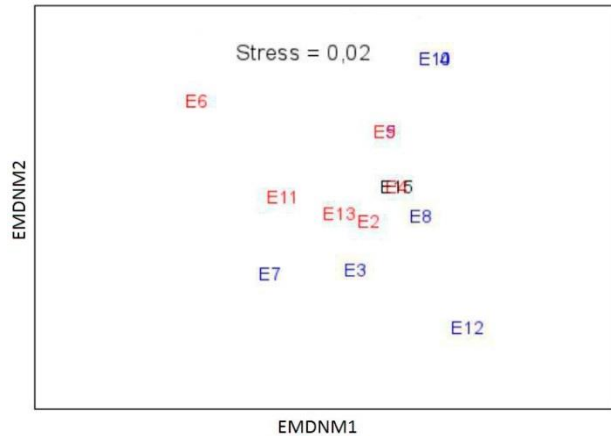


Figura 3. Representación gráfica del análisis de escalamiento multidimensional no métrico (EMDNNM) efectuado con los datos de la macrofauna en el sector Curaco de Vélez.

Fauna-metales pesados

Los análisis de regresión lineal simple y regresión lineal múltiple indican que la concentración de metales pesados no influyó significativamente sobre los atributos comunitarios (riqueza de especies, abundancia total y diversidad de Shannon-Weaver), de la macrofauna de fondos sedimentarios de la zona de estudio. Por otra parte, el test de BIOENV (regresión multivariada entre los contenidos de metales pesados y la estructura comunitaria de la macrofauna), mostró que fue la concentración de Cu y Cu+Zn los elementos que mejor explican la distribución de la riqueza de especies y abundancia de individuos de la macrofauna (Tabla 5).

El análisis EMDNNM realizado en base al contenido del conjunto de metales pesados registrados en los sedimentos, sugiere que las estaciones 5, 9, 10, 11, 13 y 14, presentaron, distintos contenidos de metales que el resto de las estaciones (Fig. 5).

Tabla 3. Concentración promedio de metales encontrados en sedimentos del sector de Curaco de Vélez. nd: no detectado.

Estación	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Sn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Al (% en peso)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
1	10,67	33,78	nd	nd	1,74	nd
2	9,21	36,98	nd	nd	1,62	nd
3	9,66	35,96	nd	nd	1,74	nd
4	11,48	35,19	nd	nd	1,72	nd
5	8,73	31,40	nd	nd	1,50	nd
6	12,65	35,19	nd	nd	1,79	nd
7	10,50	34,16	nd	nd	1,78	nd
8	9,90	31,44	nd	nd	1,61	6,21
9	25,84	42,20	nd	nd	1,59	nd
10	45,48	47,74	nd	nd	1,56	nd
11	20,13	45,06	nd	nd	1,59	nd
12	12,42	37,99	nd	nd	1,72	nd
13	17,37	38,47	nd	nd	1,62	nd
14	10,31	33,37	nd	nd	1,53	nd
15	9,32	33,40	nd	nd	1,64	nd

El análisis ANOSIM confirma lo observado en el EMDNNM; esto es, las estaciones que más se separan en el ENMDNNM presentaron diferencias significativas en sus contenidos (en conjunto) de metales pesados que el resto de estaciones (Tabla 4). El test de SIMPER mostró que fue principalmente el contenido de Cu y en menor medida el contenido de Zn, los metales que más influyeron en explicar las diferencias registradas entre las distintas estaciones de muestreo.

Los resultados de los análisis multivariados confirmaron aquellos registrados en los análisis de Kruskal-Wallis, donde se compararon las concentraciones de metales de manera individual entre las estaciones de muestreo.

Los resultados de la prueba RELATE mostraron una relación significativa entre la matriz biológica que subyace al EMDNNM y la matriz de similitud resultante de los datos de metales pesados.

Sector Bahía Lin Lin

Parámetros biológicos

En promedio, los mayores valores de riqueza de especies y diversidad se registraron en las estaciones localizadas a 100 m de las balsas y los menores en la zona control (Tabla 6). La abundancia total registró, en promedio, los valores mayores en las estaciones localizadas en los vértices de las balsas y los menores en la zona control (Fig. 6, Tabla 6).

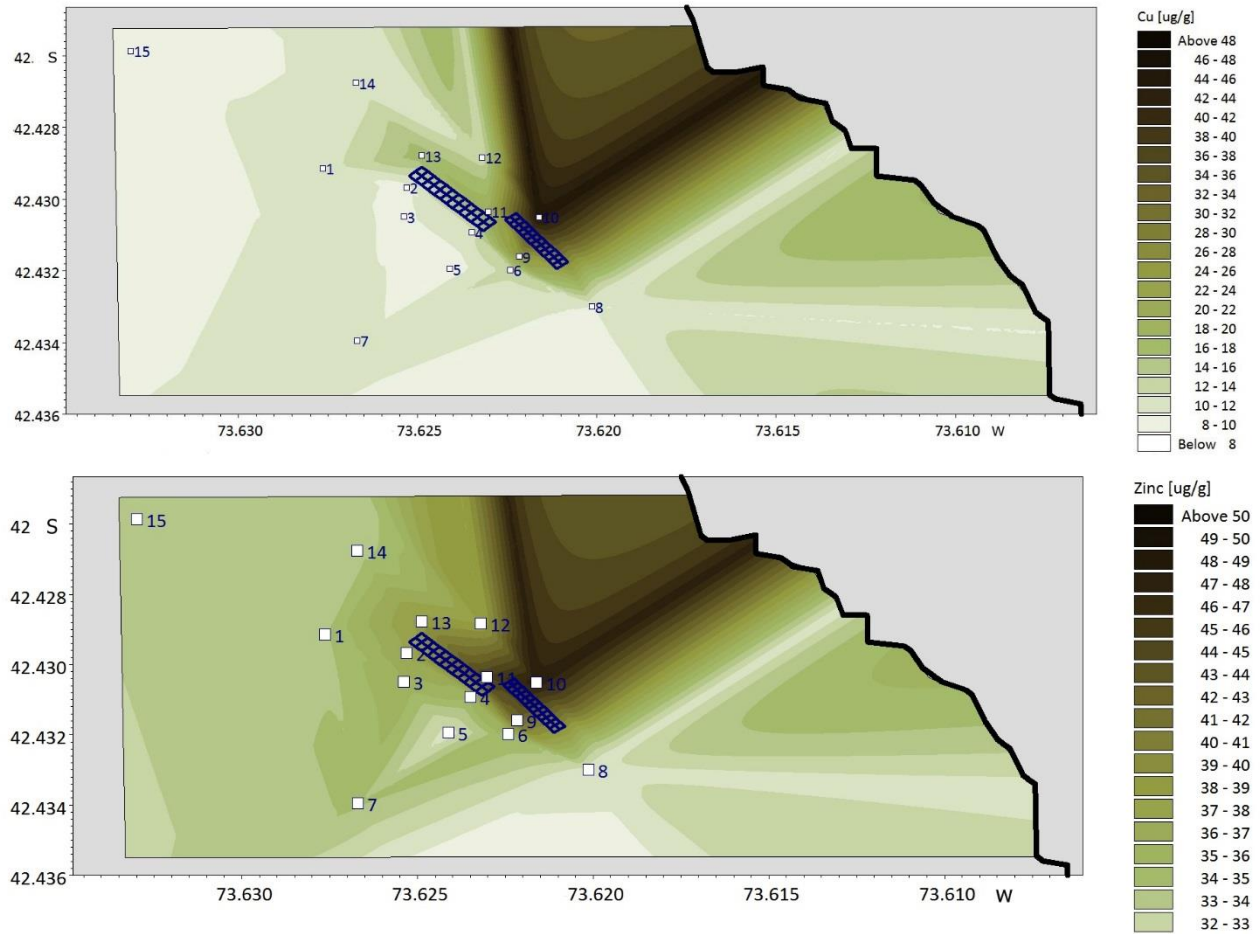


Figura 4. Concentración de Cu y Zn en el sector Curaco de Vélez. En línea punteada la ubicación del centro antes de 2009.

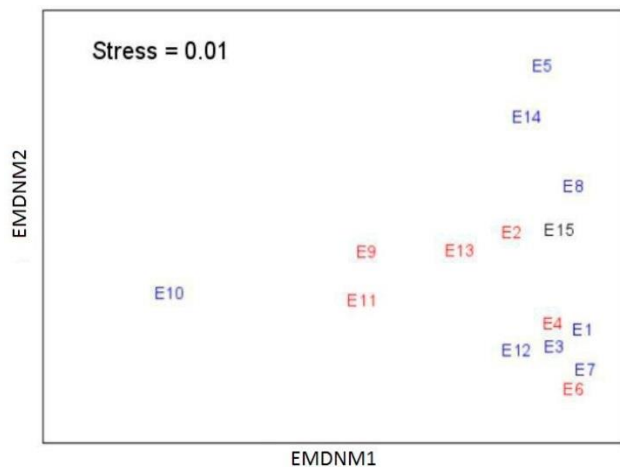


Figura 5. Representación gráfica del análisis de escalamiento multidimensional no métrico (EMDNM) efectuado con los datos de los contenidos de metales pesados en el sector Curaco de Vélez.

A diferencia de lo registrado en Curaco de Vélez, los análisis EMDNM realizados en base a la riqueza y abundancia de la macrofauna, mostraron que las estaciones localizadas en los vértices de las balsas no presentaron una clara diferencia con aquellas localizadas a 100 m, pero sí con la estación control (Fig. 7). Esto sugiere que la estructura comunitaria entre ambos grupos de estaciones no son altamente disímiles.

Metales

La Figura 6 muestra la ubicación de las estaciones de muestreo donde se determinó el contenido de metales pesados. De los seis metales pesados estudiados en Bahía Linlin, el Cd presentó los mismos valores en todas las estaciones de muestreo con concentraciones que estuvieron bajo los límites de detección del análisis correspondiente, esto es $<2 \mu\text{g g}^{-1}$ (Tabla 7). Por lo tanto, este metal no fue incluido en los análisis estadísticos uni y multivariados posteriores. Además, el contenido de Pb fue utilizado sólo en los análisis

Tabla 4. Disimilitud entre estaciones de muestreo del sector Curaco de Vélez: resultado del análisis SIMPER basado en los contenidos de metales pesados (Cu, Zn, Al). Valores en negrita muestran indicaciones significativas de acuerdo al análisis ANOSIM.

Estación	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15
E1															
E2	1,97														
E3	0,78	1,42													
E4	0,88	1,43	0,71												
E5	9,04	7,14	9,39	8,75											
E6	0,90	2,56	0,78	1,02	10,96										
E7	1,10	2,78	1,09	1,33	10,55	1,04									
E8	1,96	1,79	2,36	1,99	5,89	3,18	2,98								
E9	7,40	4,75	6,34	5,93	13,26	6,92	8,27	7,93							
E10	23,62	19,71	22,04	21,11	30,26	21,91	24,55	24,90	6,56						
E11	8,02	4,56	6,36	6,35	14,29	7,44	8,76	9,03	1,58	8,45					
E12	1,33	1,35	0,72	0,96	9,98	1,08	1,67	3,08	4,42	18,05	4,34				
E13	2,90	1,29	2,29	2,05	8,51	3,03	3,73	3,03	1,99	12,89	2,46	1,49			
E14	3,60	1,78	3,67	3,18	5,50	5,05	4,92	1,38	6,69	22,34	7,47	3,92	2,67		
E15	1,50	1,29	1,57	1,42	6,67	2,36	2,33	1,03	6,96	23,47	7,55	2,08	2,43	1,75	

Tabla 5. Resultados del análisis de BIOENV para el sector Curaco de Vélez.

N° variable	Combinación de variables	Coefficiente de correlación de Spearman
1	Cu	0,682
2	Cu, Zn	0,588
1	Zn	0,498
3	Cu, Zn, Al	0,430

multivariados, ya que su variabilidad fue mínima para incluirlo dentro de los análisis de varianza y regresión.

Las concentraciones de Cu presentaron valores promedios extremos de $29 \mu\text{g g}^{-1}$ y $9 \mu\text{g g}^{-1}$ (estación 26 y estación 22, respectivamente) (Fig. 8, Tabla 7). La máxima concentración de Zn ocurrió en la estación 26 ($63 \mu\text{g g}^{-1}$) y la mínima en las estaciones 16 y 30 ($28 \mu\text{g g}^{-1}$) (Tabla 7). El contenido de Sn presentó los mayores valores en la estación 16 ($9 \mu\text{g g}^{-1}$) y los menores valores (bajo los límites de detección del análisis) en

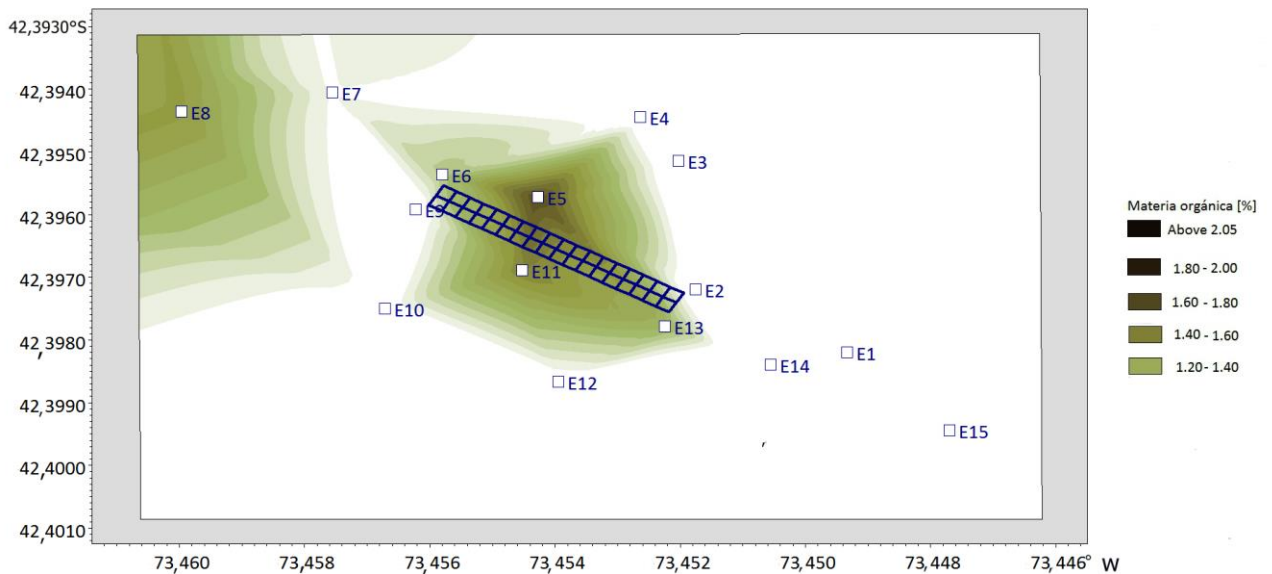


Figura 6. Posición de las estaciones en el sector Lin Lin. En negro se indica el tren de balsas de cultivo y porcentaje de materia orgánica en sedimentos.

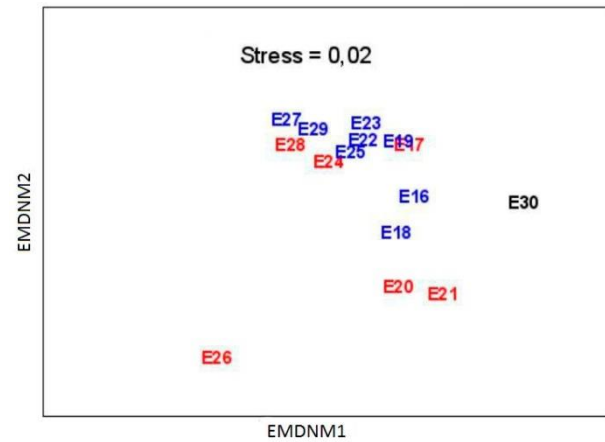
Tabla 6. Atributos comunitarios de la macrofauna estimados en 15 estaciones del sector Lin Lin.

Estación	Abundancia total (ind m ²)	Riqueza de taxa	Diversidad de especies (H')
E16	150	8	0,850
E17	70	5	0,673
E18	150	6	0,509
E19	110	7	0,802
E20	160	4	0,299
E21	90	2	0,151
E22	240	13	1,026
E23	190	11	0,962
E24	310	10	0,863
E25	250	10	0,843
E26	1660	13	0,585
E27	640	20	1,113
E28	390	11	0,916
E29	390	11	0,868
E30	30	3	0,477

los sedimentos de las estaciones 21 y 24-30 (<5 µg g⁻¹). El menor porcentaje de Al se registró en la estación 28 (0,88%) y el mayor en la estación 22 (1,84%) (Tabla 7). Los análisis de Kruskal-Wallis mostraron que los sedimentos de la estación 26 presentaron contenidos significativamente más altos de Cu ($P = 0,00031$) y Zn ($P = 8,293e-06$) que la mayoría de las estaciones de muestreo. Estos mismos análisis mostraron que los sedimentos de la estación 16 registraron los mayores contenidos de Sn ($P = 2,981e-05$) que la mayoría de las estaciones, mientras que los sedimentos de las estaciones 16 y 22 registraron los mayores valores de Al ($P = 2,683e-05$) que la mayoría de las estaciones. Es importante destacar que las mayores concentraciones de metales pesados se determinaron en los sedimentos asociados a las balsas de cultivo, situación similar a la registrada en el sector Curaco de Vélez (Tabla 7).

El análisis EMDNM realizado en base al conjunto de metales pesados registrados en los sedimentos, sugiere que las estaciones 16, 20, 23, 26 y 27, presentaron, en general, distintos contenidos de metales que el resto de las estaciones (Fig. 9).

El análisis ANOSIM confirma lo observado en el EMDNM; esto es, las estaciones que más se separan en el EMDNM presentaron diferencias significativas en sus contenidos (en conjunto) de metales pesados que el resto de estaciones (Tabla 8, Fig. 9). El test de SIMPER mostró que los contenidos de Cu y de Zn fueron los que más influyeron en explicar las diferencias registradas entre las estaciones 20 y 26 con el resto de estaciones. Sn y Al fueron los que más influyeron en las diferencias observadas entre la estación 16 y el resto de estaciones. El Pb y Sn en el caso de la estación 23 y sólo el Pb en la caso de la estación 27 fueron los que más influyeron en explicar las diferencias observadas entre esas esta-

**Figura 7.** Representación gráfica del análisis de escalamiento multidimensional no métrico (EMDNM) efectuado con los datos de la macrofauna en el sector Lin Lin.

ciones con el resto de los puntos de muestreo. Los resultados de los análisis multivariados confirman los registrados en los análisis de Kruskal-Wallis, donde se compararon las concentraciones de metales de manera individual entre las estaciones de muestreo.

Fauna-metales pesados

Los análisis de regresión lineal simple mostraron que de los tres atributos estudiados (riqueza de especies, abundancia total y diversidad de especies) sólo la abundancia fue explicada por el contenido de metales. La abundancia incrementó significativamente con el contenido de Cu ($R^2 = 69,8$) y Zn ($R^2 = 55,6$) y disminuyó con el contenido de Al ($R^2 = 31,3$). Similar a lo registrado en la regresión lineal, el análisis de regresión múltiple mostró que sólo la abundancia es explicada por el contenido de metales; siendo el Cu el que mejor explicó el incremento en la abundancia. Por otra parte, el test de BIOENV mostró que fue la concentración de Al, y Zn+Al los elementos que mejor explicaron la distribución de la riqueza de especies y abundancia de individuos de la macrofauna (Tabla 9). Sin embargo, los resultados de la prueba RELATE no mostraron una relación significativa entre la matriz biológica que subyace al EMDNM y la matriz de similitud resultante de los datos de metales pesados, indicando que la “distribución de los metales pesados” no explicó significativamente la estructura comunitaria de la macrofauna.

Sector Llingua

Parámetros biológicos

En promedio, los mayores valores de riqueza de especies y diversidad se registraron en las estaciones localizadas a 100 m de las balsas. Las estaciones loca-

Tabla 7. Concentración de metales pesados registrados en las 15 estaciones de muestreo del sector Lin Lin. Se entrega el promedio de las cuatro réplicas de cada estación. nd: no detectado.

Estación	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Sn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Al (% en peso)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
16	9,99	27,62	nd	nd	1,83	nd
17	9,94	39,02	nd	nd	1,67	nd
18	11,65	42,23	nd	nd	1,62	nd
19	11,49	37,70	nd	nd	1,66	nd
20	17,50	47,68	nd	nd	1,71	nd
21	11,70	40,65	nd	nd	1,71	nd
22	9,09	29,70	nd	nd	1,84	nd
23	11,59	36,82	nd	nd	1,40	5,96
24	12,14	37,72	nd	nd	1,07	nd
25	11,21	34,03	nd	nd	1,08	nd
26	28,58	62,61	nd	nd	0,95	nd
27	12,14	39,75	nd	nd	1,04	nd
28	14,06	42,89	nd	nd	0,88	nd
29	10,79	34,15	nd	nd	1,03	nd
30	13,30	28,38	nd	nd	1,27	nd

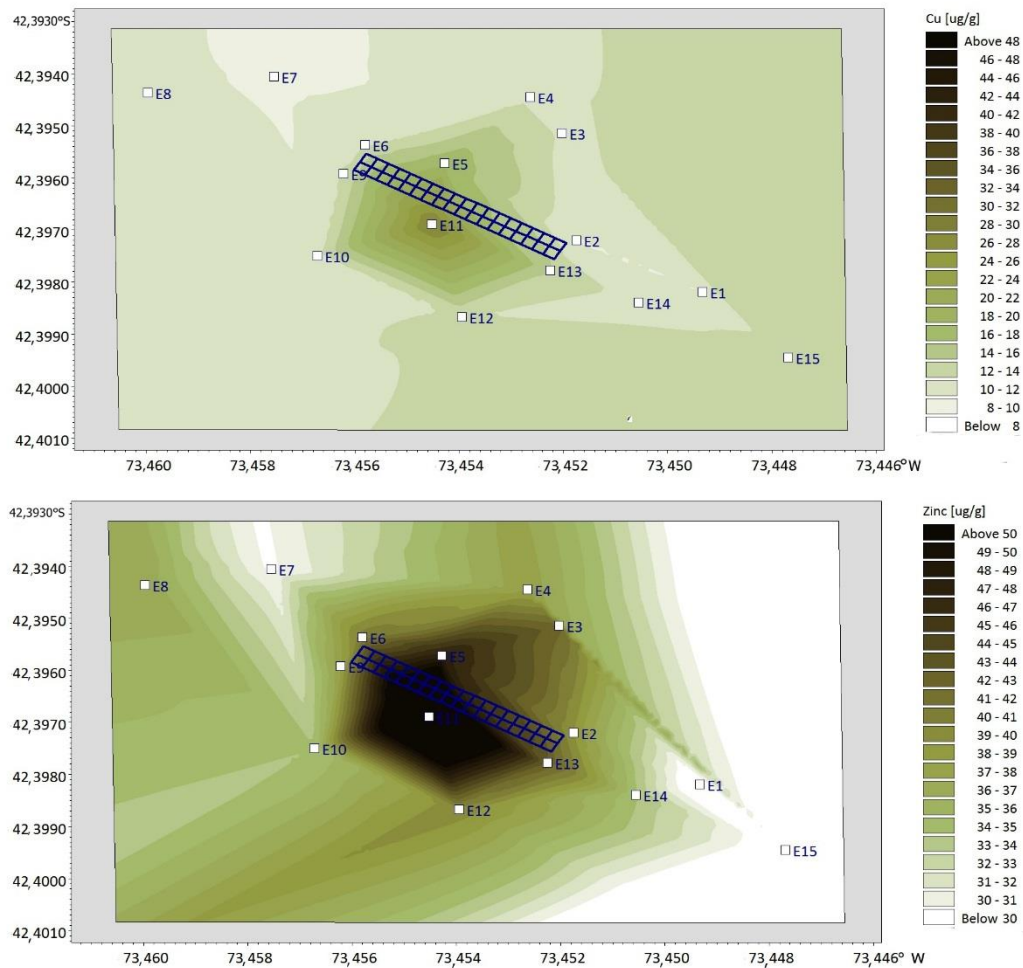


Figura 8. Estaciones de muestreo y concentraciones de Cu y Zn en sedimentos del sector Lin Lin.

Tabla 8. Disimilitud entre estaciones de muestreo en el sector LinLin: resultado del análisis SIMPER basado en los contenidos de metales pesados (Cu, Zn, Sn, Al, Pb). Valores en negrita muestran diferencias significativas de acuerdo al análisis ANOSIM.

Estación	E16	E17	E18	E19	E20	E21	E22	E23	E24	E25	E26	E27	E28	E29
E16														
E17	5,0													
E18	7,2	2,1												
E19	5,3	2,9	3,0											
E20	10,3	4,2	2,6	4,7										
E21	10,1	3,1	2,1	4,3	3,4									
E22	4,9	3,0	3,6	3,9	7,1	3,0								
E23	17,4	12,5	11,9	13,3	14,1	12,0	13,0							
E24	14,3	6,0	4,5	7,0	6,9	3,5	6,6	11,9						
E25	15,6	8,4	7,2	9,3	10,4	6,0	8,0	9,9	2,6					
E26	44,2	29,1	23,7	29,1	16,5	23,7	36,3	33,9	20,4	26,1				
E27	21,6	12,7	11,0	13,7	13,2	10,1	13,8	5,8	6,6	6,0	25,6			
E28	18,7	8,7	6,4	9,6	7,6	5,8	10,9	13,8	1,0	4,0	15,7	7,1		
E29	13,9	6,6	5,4	7,5	8,9	4,3	6,3	12,3	0,4	2,5	24,2	7,0	1,8	
E30	13,2	8,0	7,2	8,6	10,0	5,6	6,2	14,1	3,4	5,0	28,0	10,3	5,7	3,1

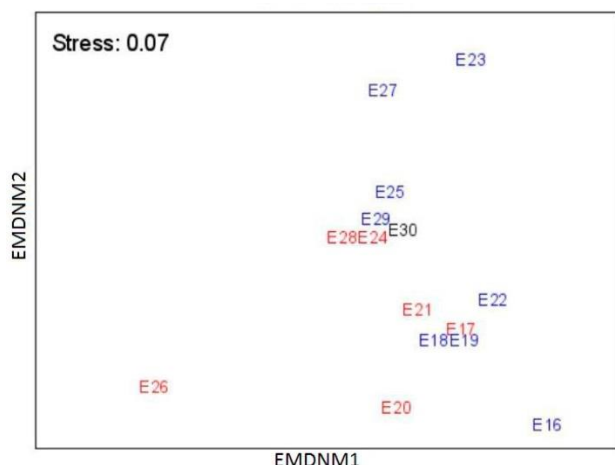


Figura 9. Representación gráfica del análisis de escalamiento multidimensional no métrico (EMDNM) efectuado con los datos de los contenidos de metales pesados en el sector Lin Lin.

lizadas en los vértices de las balsas y la estación control presentaron valores similares de riqueza y diversidad. La abundancia total registró, en promedio, los mayores valores en las estaciones localizadas en los vértices de las balsas y los menores en la zona control (Fig. 10, Tabla 10).

Los análisis EMDNM realizados en base a la riqueza y abundancia de la macrofauna, mostraron, en general, una separación de las estaciones localizadas en los vértices de las balsas con aquellas localizadas a 100 m (Fig. 11). Esto sugiere que la estructura comunitaria entre ambos grupos de estaciones es diferente. La esta-

Tabla 9. Resultados del análisis de BIOENV para el sector Lin Lin.

Nº variables	Combinación	Coefficiente de correlación de variables de Spearman
1	Al	0,254
2	Zn, Al	0,233
2	Sn, Al	0,227
3	Cu, Zn, Al	0,226
3	Zn, Sn, Al	0,199
4	Cu, Zn, Sn, Al	0,174
2	Zn, Sn	0,161
2	Cu, Zn	0,148
1	Sn	0,146
3	Cu, Zn, Sn	0,130

ción control se observó más similar a las estaciones localizadas a 100 m de las balsas de cultivo.

Metales

La Figura 12 muestra la ubicación de las estaciones donde se determinó el contenido de metales pesados. De los seis metales pesados estudiados en el sector Llingua, Sn, Cd y Pb presentaron los mismos valores en todas las estaciones con concentraciones que estuvieron siempre bajo los límites de detección del análisis correspondiente, $<5 \mu\text{g g}^{-1}$, $<2 \mu\text{g g}^{-1}$ y $<5 \mu\text{g g}^{-1}$, para Sn, Cd y Pb, respectivamente (Tabla 11). Por lo tanto, estos metales no fueron incluidos en los análisis posteriores.

Las concentraciones de Cu presentaron valores promedios extremos de $1.034 \mu\text{g g}^{-1}$ y $31 \mu\text{g g}^{-1}$ (estación 34 y estación 45, respectivamente) (Tabla 11).

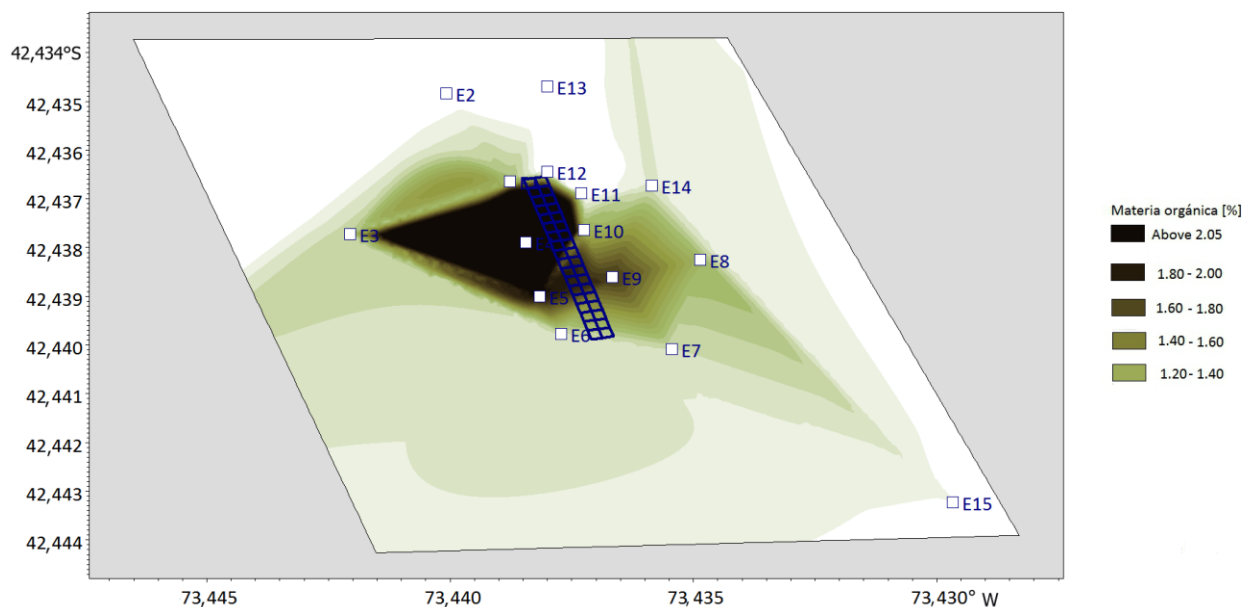


Figura 10. Estaciones de muestreo en el sector Llingua y porcentaje de materia orgánica en sedimentos. En negro la posición de la balsa jaula.

Tabla 10. Atributos comunitarios de la macrofauna estimados en 15 estaciones del sector Llingua.

Estación	Abundancia total (ind m ²)	Riqueza de taxa	Diversidad de especies (H')
E31	480	4	0,131
E32	250	9	0,850
E33	450	12	0,722
E34	320	4	0,474
E35	580	8	0,638
E36	220	12	1,014
E37	10	1	0,000
E38	210	6	0,682
E39	240	5	0,571
E40	760	5	0,509
E41	350	10	0,823
E42	120	6	0,586
E43	370	12	0,797
E44	200	11	0,917
E45	140	5	0,490

La máxima concentración de Zn ocurrió en la estación 34 ($119 \mu\text{g g}^{-1}$) y la mínima en la estación 42 ($20 \mu\text{g g}^{-1}$) (Tabla 11). El menor porcentaje de aluminio Al se registró en la estación 41 (1,07%) y el mayor en la estación 42 (1,72%) (Tabla 11). El análisis de Kruskal-Wallis mostró que los sedimentos de la estación 34 presentaron contenidos significativamente más altos de Cu ($P = 7,804\text{e-}07$) y Zn ($P = 2,344\text{e-}05$) que la mayoría de las estaciones (Fig. 12). Estos mismos

análisis mostraron que la mayoría de las estaciones mostró diferencias significativas entre sí en el contenido de Al ($P = 7,982\text{e-}06$) (Fig. 12). También se destaca que similar a lo registrado en los otros dos sectores, las mayores concentraciones de metales estuvieron asociadas a los sedimentos de las estaciones localizadas en las balsas de cultivo (Tabla 11).

El análisis EMDNM realizado en base al conjunto de metales pesados registrados en los sedimentos, sugie-

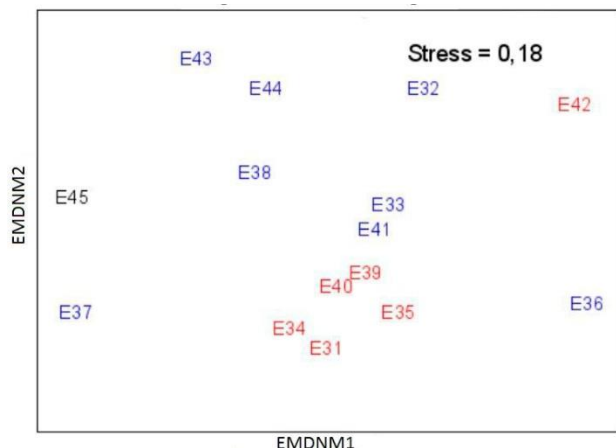


Figura 11. Representación gráfica del análisis de escalamiento multidimensional no métrico (EMDNNM) efectuado con los datos de la macrofauna en el sector Llingua.

re que las estaciones 34, 35, 38 y 39, presentan distintos contenidos de metales que el resto de las estaciones (Fig. 13).

El análisis ANOSIM confirma lo observado en el EMDNNM; esto es, las estaciones que más se separan en el ENMDNNM, presentaron diferencias significativas en sus contenidos (en conjunto) de metales pesados con el resto de estaciones (Tabla 12). El test de SIMPER mostró que fue principalmente el contenido de Cu y de Zn los que más influyeron en explicar las diferencias registradas entre esas estaciones con el resto de las estaciones de muestreo. Los resultados de los análisis multivariados confirman aquellos registrados en el

análisis de Kruskal-Wallis, donde se compraron las concentraciones de metales de manera individual entre estaciones.

Fauna-metales pesados

Los análisis de regresión lineal simple y regresión lineal múltiple indicaron que la concentración de metales pesados no influyó significativamente sobre los atributos comunitarios (riqueza de especies, abundancia total y diversidad de Shannon-Weaver) de la macrofauna de fondos sedimentarios de la zona de estudio. Por otra parte, el test de BIOENV mostró que fue la concentración de Cu+Al los elementos que mejor explican la distribución de la riqueza de especies y abundancia de individuos de la macrofauna (Tabla 13). Sin embargo, los resultados de la prueba RELATE no mostraron una relación significativa entre la matriz biológica que subyace al EMDNNM y la matriz de similitud resultante de los datos de metales pesados, indicando que la “distribución de los metales pesados” no explica significativamente la estructura comunitaria de la macrofauna.

DISCUSIÓN

La distribución de Cu y Zn en los sedimentos asociados a los centros de cultivo no es uniforme alrededor del tren de balsas jaulas y las mayores concentraciones se ubican aproximadamente a 100 m de distancia. En la zona de Curaco de Vélez existen antecedentes de que la ubicación de las balsas ha variado en el transcurso del tiempo y que la posición actual es a partir de febrero de 2009. Anteriormente, el tren se ubicaba cerca de la

Tabla 11. Concentración de metales pesados registrados en las 15 estaciones de muestreo del sector Llingua. Se entrega el promedio. nd: no detectado.

Estación	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Sn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Al (% en peso)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
31	74,81	34,76	nd	nd	1,44	nd
32	130,46	31,00	nd	nd	1,46	nd
33	158,62	28,43	nd	nd	1,70	nd
34	1034,37	119,28	nd	nd	1,38	nd
35	661,17	51,21	nd	nd	1,66	nd
36	355,83	32,58	nd	nd	1,68	nd
37	377,93	35,16	nd	nd	1,66	nd
38	898,04	48,19	nd	nd	1,41	nd
39	645,02	46,50	nd	nd	1,60	nd
40	142,50	39,75	nd	nd	1,33	nd
41	302,50	35,75	nd	nd	1,07	nd
42	135,75	20,25	nd	nd	1,72	nd
43	62,50	32,00	nd	nd	1,10	nd
44	53,25	23,75	nd	nd	1,10	nd
45	30,75	31,00	nd	nd	1,69	nd

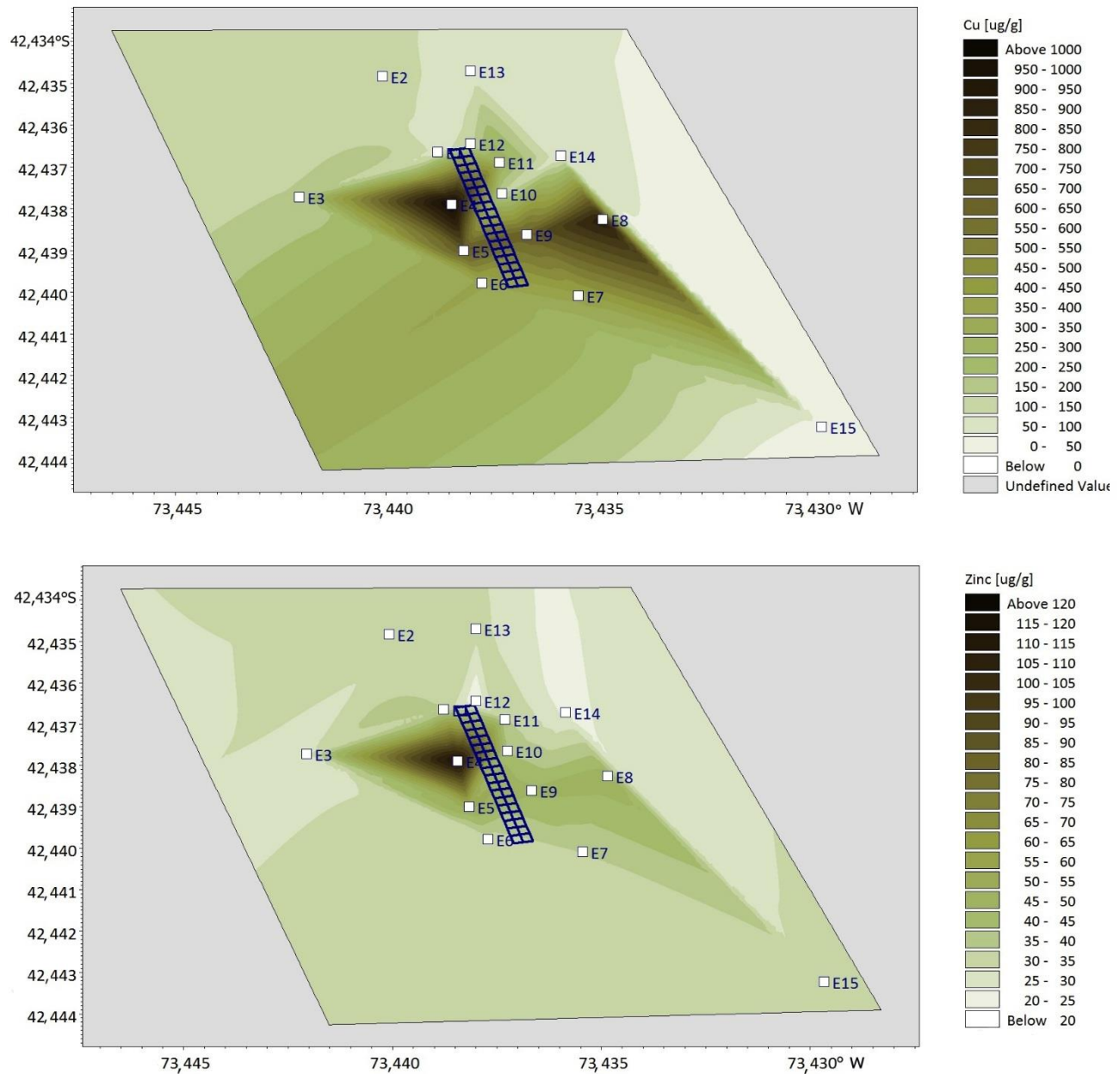


Figura 12. Estaciones de muestreo y concentraciones de Cu y Zn en sedimentos del sector Llingua.

estación 10 como se indica en la Figura 5 en línea punteada, atribuyéndose la distribución de las concentraciones de metales pesados en sedimentos a las características oceanográficas físicas de la zona (corrientes, profundidad, etc). Se encontró diferencia entre la distribución de materia orgánica y el Cu y Zn, esto posiblemente se debe a la diferencia en el tiempo de permanencia en el sedimento de estos metales, que comparado con el cambio posicional del tren de balsas-jaulas, explicaría la diferencia en la distribución de las concentraciones de metales pesados. Si a este antecedente se agrega que el principal aporte de Zn al

sedimento, proviene en teoría de los alimentos suministrados a los peces del centro de cultivo (Burrige *et al.*, 2010), la distribución de Zn en los sedimentos debería ser similar a la de la materia orgánica, lo que según los datos de la zona de Curaco de Vélez, no sucede: Esto corrobora la hipótesis que el movimiento del centro y tiempo de permanencia en los sedimentos, puede alterar los patrones de distribución de la materia orgánica, Cu y Zn y por ende su interpretación de que estos son provenientes del centro de cultivo y no de fuentes externas.

Tabla 12. Disimilitud entre estaciones de muestreo en el sector Llingua: resultado del análisis SIMPER basado en los contenidos de metales pesados (Cu, Zn, Al). Valores en negrita muestran diferencias significativas de acuerdo al análisis ANOSIM.

Estación	E31	E32	E33	E34	E35	E36	E37	E38	E39	E40	E41	E42	E43	E44	E45
E31															
E32	0,35														
E33	1,44	1,10													
E34	20,96	21,35	23,21												
E35	7,15	6,73	6,02	14,72											
E36	1,90	1,47	0,54	19,54	4,60										
E37	1,70	1,31	0,58	18,20	4,23	0,24									
E38	6,58	6,12	7,16	11,17	5,49	4,96	4,33								
E39	3,43	3,01	2,67	12,55	3,31	1,35	0,98	2,15							
E40	0,71	0,83	2,73	18,68	7,40	2,88	2,52	5,81	3,60						
E41	3,10	3,24	7,06	19,48	10,50	6,65	6,06	6,18	6,20	1,99					
E42	2,00	1,55	0,30	26,60	7,08	0,94	1,08	8,41	3,36	3,54	8,02				
E43	2,21	2,49	6,18	23,3	11,78	6,55	6,10	8,48	7,40	1,49	0,94	6,92			
E44	2,36	2,53	6,15	26,01	12,50	6,68	6,30	9,14	7,98	1,80	1,15	6,65	0,31		
E45	1,43	1,24	0,34	24,29	7,02	1,12	1,18	8,62	3,68	2,80	7,45	0,58	6,13	6,17	

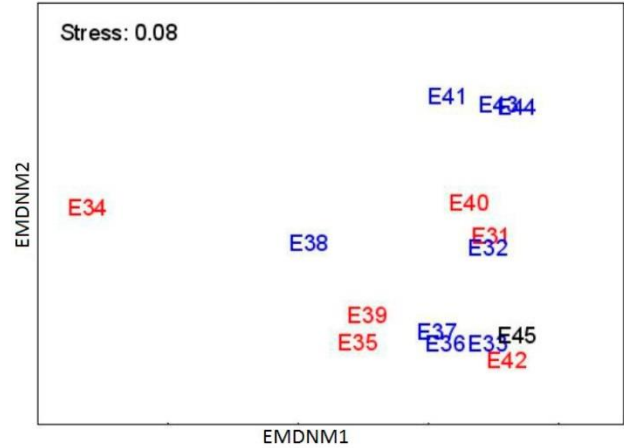


Figura 13. Representación gráfica del análisis de escalamiento multidimensional no métrico (EMDMM), efectuado con los datos de los contenidos de metales pesados en el sector Llingua.

Tabla 13. Resultados del análisis de BIOENV para el sector Llingua.

Nº Variables	Combinación	Coefficiente de correlación de variables de Spearman
1	Al	0,023
2	Cu, Al	-0,031
2	Zn, Al	-0,059
1	Zn	-0,063
1	Cu	-0,079
3	Cu, Zn, Al	-0,080
2	Cu, Zn	-0,081

Si se comparan las altas concentraciones de Cu encontradas en Llingua con las concentraciones de Cu en los sedimentos bajo las jaulas en centros de cultivo canadienses, que variaron de 100 a 150 mg kg⁻¹ de sedimento en peso seco y excedían los niveles considerados como seguros (Debourg *et al.*, 1993), se tiene una perspectiva de la magnitud del posible daño ambiental que puede llegar a producirse debido al uso de pinturas anti-incrustantes, en ambientes con características adecuadas para la acumulación de Cu y Zn. En Escocia se encontró un máximo de Cu en el sedimento bajo las balsas de 805 µg g⁻¹ y, en contraste, los sedimentos escoceses en promedio tienen 270 µg g⁻¹ de Cu, lo cual indicaría un probable impacto medio-ambiental (Dean *et al.*, 2007), valores comparables a los encontrados en Llingua. Análisis de los sedimentos alrededor y bajo centros de cultivo escoceses indicaron que los niveles patrón de concentraciones de Cu se alcanzaban alrededor de 300 m a partir del origen (balsas-jaulas) (Burridge *et al.*, 1999). Stark *et al.* (2003), describen que efectos negativos comunitarios se encontraron a concentraciones de 30 µg g⁻¹ Cu en

sedimentos marinos, con pérdida de diversidad de especies de la infauna antártica. Coincidentemente, el análisis NMDS del sector Curaco de Vélez mostró que las estaciones 9, 10 y 11 se agrupan y se diferencian de las demás estaciones en cuanto a sus atributos faunísticos.

Las estaciones del sector Llingua, alcanzaron concentraciones de Cu superiores a las otras dos zonas estudiadas (Curaco de Vélez y Lin Lin), mostrándose como un área donde los altos niveles de Cu pueden ser determinantes en la calificación de una zona ambientalmente afectada. La estación 4 presentó la mayor concentración promedio de Cu. Sin embargo, valores significativamente altos ($>300 \mu\text{g g}^{-1}$) se determinaron en las estaciones 5 a 9 (Fig. 12, Tabla 11). La gran diferencia entre la concentración de Cu en sedimentos con los otros dos sectores se debería a características particulares de corrientes y topografía del sector de Llingua, donde se han reportado concentraciones de bancos de medusas y en ocasiones bajas concentraciones de oxígeno en la columna de agua (Víctor Vargas, *com. pers.*).

Si bien es cierto los análisis de BIOENV y correlación no indicaron que los índices de biodiversidad y de abundancia del sector Llingua se hayan visto afectados por las altas concentraciones de Cu en los sedimentos. Es reconocida la diferencia en la bioacumulación de metales en diferentes organismos (DeForest *et al.*, 2007; Bellas, 2006) que puede verse afectada por factores como la salinidad (Amiard-Triquet *et al.*, 1991), temperatura, pH y oxigenación de los sedimentos (Arnol *et al.*, 2005; Becks & Sanudo-Wilhelmy, 2007), así como también por la cantidad de materia orgánica y granulometría de los sedimentos (Brooks *et al.*, 2007). Por otra parte, es posible que la biota de la zona sea resistente en cierta medida al Cu y por lo tanto, no se vea afectada por la magnitud de la contaminación. Otros factores, como el sesgo del tamizado a 1.000μ , también pueden influir en el recuento de taxas identificados y contabilizados en el muestreo, permitiendo que cambios sustanciales en comunidades de individuos bajo las 1.000μ no sean detectados debido al método utilizado.

Si bien las concentraciones de metales en esta ocasión fueron medidas en sedimentos, es necesario establecer tasas de lixiviación y modelos teóricos o prácticos como los propuestos por Brooks (2000), que analizó la liberación del Cu de pinturas anti-incrustantes y encontró pérdidas iniciales de $155 \mu\text{g Cu cm}^{-2} \text{ día}^{-1}$, declinando las tasas exponencialmente y sugirió un modelo de acuerdo al criterio de calidad de las aguas donde los centros de cultivo no podrían exceder las 24 jaulas en dos filas orientadas paralelamente a las corrientes con un máximo de 20 cm seg^{-1} .

También hay que considerar que la mayoría de las veces el óxido cuproso viene acompañado de otros compuestos químicos o co-ayudantes como el Ingarol o Diuron, compuestos que por sí mismos pueden afectar a las comunidades presentes en la columna de agua o en los sedimentos asociados a los centros de cultivo que utilizan anti-incrustantes (Guardiola *et al.*, 2012) y que no fueron la finalidad de este estudio.

Actualmente, se reconoce que las pinturas anti-incrustantes en base a Cu poseen la mayor parte del mercado, pero también existen alternativas como es el caso de los nano-polímeros que evitan que los organismos incrustantes se adhieran a las mallas de las balsas-jaulas (Callow, 2010; Callow & Callow, 2011), las mallas de aleación de cobre y zinc, y de polietileno.

Debido a las graves consecuencias que pueden llegar a tener las altas concentraciones de Cu provenientes de las pinturas anti-incrustantes en los ecosistemas ambientalmente sensibles del sur de Chile, es necesario proponer estudios referentes a tasas de lixiviación desde las redes impregnadas en los cultivos de salmonídeos, experimentos para ver el efecto de altas concentraciones de Cu en sedimentos con macroinfauna propia de la zona y establecer la presencia en la columna de agua o sedimentos de otros tipos de anti-incrustantes usados como co-ayudantes (*e.g.*, Ingarol o Diuron).

REFERENCIAS

- Amiard-Triquet, C., B. Berthe & R. Martoja. 1991. Influence of salinity on trace metal (Cu, Zn, Ag) accumulation at the molecular, cellular and organism level in the oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. *Biol. Met.*, 4: 144-150.
- Arnold, W., R. Santore & J. Cotsifas. 2005. Predicting copper toxicity in estuarine and marine waters using the biotic ligand model. *Mar. Pollut. Bull.*, 50: 1634-1640.
- Beck, A. & S. Sanudo-Wilhelmy. 2007. Impact of water temperature and dissolved oxygen on copper cycling in an urban estuary. *Environ. Sci. Technol.*, 41(17): 6103-6108.
- Bellas, J. 2006. Comparative toxicity of alternative antifouling biocides on embryos and larvae of marine invertebrates. *Sci. Total Environ.*, 367: 573-585.
- Braithwaite, R., M. Carracosa & L. McEvoy. 2007. Biofouling of salmon cage netting and the efficacy of a typical copper-based antifouling. *Aquaculture*, 262: 219-226.
- Bravo, S., H. Dolz, M. Silva, C. Lagos, A. Millanao & M. Urbina. 2005. Diagnóstico del uso de fármacos y otros productos químicos en la acuicultura. Informe Final

- Proyecto FIP N° 2003: 256 pp. [www.fip.cl/FIP/Archivos/pdf/informes/inffinal%202003-28.pdf]. Revisado: 30 abril 2013.
- Brooks, K. 2000. Determination of copper lost rates from Flexgard XI™ treated nets in marine environments and evaluation of the resulting environmental risks. Report to the Ministry of Environment for the BC Salmon Farmers Association, Vancouver B.C., 24 pp.
- Brooks, K. & C. Mahnken. 2003. Interactions of Atlantic salmon in the Pacific Northwest environment III. Accumulation of zinc and copper. *Fish. Res.*, 62: 295-305.
- Brooks, S.J., T. Bolam, L. Tolhurst, J. Bassett, J. La Roche, M. Waldoock, J. Barry & K.V. Thomas. 2007. The effects of dissolved organic carbon on the toxicity of copper to the developing embryos of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 26: 1756-1763.
- Burrige, L., K. Doe, K. Haya, P. Jackman, G. Lindsay & V. Zitko. 1999. Chemical analysis and toxicity tests on sediments under salmon net pens in the Bay of Fundy. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 2291: 39 pp.
- Burrige, L., J. Weis, F. Cabello, J. Pizarro & K. Bostick. 2010. Chemical use in salmon aquaculture: a review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, 306: 7-23.
- Callow, J. 2010. Advanced nanostructured surfaces for the control of biofouling. The publishable final activity report of the AMBIO Integrated Project. Project N° NMP4-CT-2005-011827: 47 pp.
- Callow, J. & M. Callow. 2011. Trends in the development of environmentally friendly fouling-resistant marine coatings. *Nature Communications*, 2. doi.10.1038/ncomms1251.
- Carr, M. 1997. Primer user manual. Plymouth Marine Laboratory Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research. Plymouth, PL13DH, UK, 63 pp.
- Clarke, K. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust. J. Ecol.*, 18: 117-143.
- Dean, R., T. Shimmiel & K.D. Black. 2007. Copper, zinc and cadmium in marine cage fish farm sediments: an extensive survey. *Environ. Pollut.*, 145: 84-95.
- DeForest, D., K. Brix & W. Adams. 2007. Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: the inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. *Aquat. Toxicol.*, 84: 236-246.
- Debourg, C., A. Johnson, C. Lye, L. Tornqvist & C. Unger. 1993. Antifouling products, pleasure boats, commercial vessels, net, fish cages, and other underwater equipment. KEM Report No. 2/93, The Swedish National Chemicals Inspectorate, Stockholm, 58 pp.
- Ernst, W., K. Doe, P. Jonah, J. Young, G. Julien & P. Hennigar. 1991. The toxicity of chlorothalonil to aquatic fauna and the impact of its operational use on a pond ecosystem. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 21: 1-9.
- European Parliament and of the Council (EPC). 1998. Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council of 16 February Concerning the Placing of Biocidal Products on the Market. *Off. J. Eur. Communities L* 123/1.
- Guardiola, F., A. Cuesta, J. Meseguer & M. Esteban. 2012. Risks of using antifouling biocides in aquaculture. *Int. J. Mol. Sci.*, 13: 1541-1560.
- Konstantinou, I. & T. Albanis. 2004. Worldwide occurrence and effect of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review. *Environ. Int.*, 30: 235-248.
- Lovegrove, T. 1979. Control of fouling in farm cages. *Fish Farm. Int.*, 6(1): 33-37.
- Sneddon, R. & L. Tremblay. 2011. The New Zealand king salmon company limited: assessment of environmental effects-copper and zinc. The New Zealand King Salmon Company Ltd., Cawthron Report N°1984: 53 pp.
- Sokal, R. & F. Rohlf. 1995. *Biometry*. W.H. Freeman & Company, New York, 887 pp.
- Stark, J., M. Riddle, I. Snape & R. Scouller. 2003. Human impacts in Antarctic marine soft-sediments assemblages: correlations between multivariate biological patterns and environmental variables at Casey Station. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 56: 717-734.
- Thomas, K. 2001. The environmental fate and behavior of antifouling paint booster biocides: a review. *Biofouling*, 17(1): 73-86.
- Thomas, K. & S. Brooks. 2010. The environmental fate and effects of antifouling paint biocides. *Biofouling*, 26: 73-78.

Received: 10 October 2013; Accepted: 25 January 2015