



Universidad Austral de Chile

Centro Trapananda

INFORME FINAL PROYECTO FIP 2008-30

“EVALUACIÓN CUANTITATIVA DEL ESTADO TRÓFICO DE
SALMÓNIDOS DE VIDA LIBRE EN EL FIORDO AYSÉN, XI REGIÓN”

Informe CT 03-2011

CONTRAPARTE TÉCNICA

Subsecretaría de Pesca

EDITADO POR:

Edwin Niklitschek¹ & Pamela Toledo¹

¹Universidad Austral de Chile

Puerto Montt, 09 de agosto de 2011

Presentación de autores por función o tema desarrollado

(Orden alfabético, a partir de Jefe de Proyecto)

Nombre	Función
Edwin Niklitschek	Dirección general del proyecto; análisis trófico de salmónidos en el Fiordo (objetivos 1 y 2) y análisis estadístico integrado, lectura de edad escamas y otolitos; edición y revisión de informes.
Eduardo Aedo	Recopilación de información de siembras e incidencia de escapes de salmónidos en el Fiordo Aysén (objetivo 3)
Miguel Araya	Lectura de edad en otolitos
Claudia Barría	Análisis contenido energético, muestreo biológico a bordo, lectura de edad en escamas.
Cristian Canales-Aguirre	Análisis y resultados objetivo 4 y 5. Preparación de informes
Billy Ernst	Modelación trófica poblacional (objetivo 2)
Sandra Ferrada	Análisis y resultados objetivo 4 y 5. Preparación de informes
Ricardo Galleguillos	Responsable objetivos 4 y 5. Análisis e interpretación de resultados genética.
Eduardo Hernández	Coordinación muestreo biológico y actividades en terreno
Claudio Herranz	Análisis estadístico (objetivos 2).
Ciro Oyarzún	Análisis de dieta de salmónidos.
Pedro Rubilar	Análisis estadístico objetivo 1
Pamela Toledo	Coordinación grupos de trabajo, lectura de edad escamas y otolitos, análisis, administración base de datos, edición y revisión de informes.

Colaboradores:

Sixto Andrade	Pescador artesanal, toma de muestras en terreno
Javier Araneda	Muestreo biológico y oceanográfico a bordo, análisis estomacal de peces del fiordo
Maximino Astudillo	Pescador artesanal, toma de muestras en terreno
Andrea Barrera	Ayudante Laboratorio de Genética
Marcela Barriga	Ayudante Laboratorio Biología Marina Cuantitativa
Fernando Contreras	Pescador artesanal, toma de muestras en terreno
Mariem Dib	Ayudante Laboratorio de Genética
Mauricio Flores	Pescador artesanal, toma de muestras en terreno
Luis Gómez	Muestreo en terreno con cámara acústica DIDSON
Guido Guerra	Muestreo en terreno con cámara acústica DIDSON
Vania Henríquez	Muestreo biológico a bordo
Roberto Licandeo	Muestreo biológico y oceanográfico a bordo
Cristián Martínez	Muestreo biológico y oceanográfico a bordo, preparación de otolitos
Gabrielle Niklitschek	Ayudante Laboratorio Biología Marina Cuantitativa
Bernabé Reitcher	Muestreo biológico y oceanográfico a bordo
Natacha Torres	Ayudante Laboratorio Genética
Vanesa Valdés	Ayudante Laboratorio Biología Marina Cuantitativa
Lorena Vargas	Ayudante Laboratorio Biología Marina Cuantitativa
Antonio Villarroel	Pescador artesanal, toma de muestras en terreno

RESUMEN EJECUTIVO

Se realizó un total de diez campañas de pesca de identificación en el Fiordo Aysén con el fin de evaluar cuantitativamente el estado trófico de los salmónidos de vida libre en esta área. Las campañas, efectuadas entre mayo de 2009 y septiembre de 2010, tuvieron una duración efectiva de seis días cada una, utilizándose al menos dos baterías (10 unidades) de redes de enmalle (5-15 x 100 m) de seis distintas tramas (1, 2, 3, 4, 5 y 6 pulgadas) y 5 espineles de 50 a 55 anzuelos, cubriendo las tres zonas en las que se dividió el Fiordo Aysén con motivo de este estudio.

Como resultado de las campañas se capturó un total de 11861 peces, de los cuales 11334 fueron peces nativos (95,6 %) y 527 fueron salmónidos (4,4%). Los peces nativos se distribuyeron en 18 taxa, dentro de las cuales destacaron robalo *Eleginops maclovinus* (47,0%), pejerrey *Odontesthes regia* (40,0 %) y brótula *Salilota australis* (2,1%). Mientras que la mayor parte de las capturas fue obtenida mediante redes de enmalle, la captura en espineles se caracterizó por una menor diversidad (9 taxa) y ausencia de salmónidos, donde merluza austral *Merluccius australis* fue la especie más abundante.

Los 527 salmónidos de vida libre capturados incluyeron cinco taxa: salmón coho *Oncorhynchus kisutch* (30,9%), trucha café *Salmo trutta* (25,0%), salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) (24,1%), trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss* (19,2%) y salmón del Atlántico *Salmo salar* (0,8%). El monitoreo realizado a las capturas incidentales de pescadores artesanales permitió obtener otros 169 ejemplares de estas mismas cinco taxa, llegando a un total de 696 ejemplares muestreados en el fiordo.

La ausencia de centros de cultivo en la zona y la vigorosa actividad reproductiva existente en la cuenca del Río Aysén llevó a asumir que la totalidad de los ejemplares de salmón chinook y trucha café correspondieron a individuos asilvestrados. El caso opuesto fue el de salmón del Atlántico, cuyos 6 individuos muestreados fueron clasificados como escapados dada la ausencia aparente de actividad reproductiva en la zona. Un tercer caso correspondió a salmón coho y trucha arcoiris, para los que existe información de sitios de desove en la cuenca. No obstante ello, la totalidad de los otolitos inspeccionados mostró evidencia de escape, lo que sumado a otras características morfológicas llevó a clasificar la totalidad de estos ejemplares como escapados.

Salmón chinook presentó un amplio rango de tallas (14-110 cm LH) y edades, que incluyeron desde individuos del año hasta adultos próximos a cumplir su quinto año. La ausencia de tallas intermedias (47-70 cm) sugirió la existencia de una migración oceánica similar a la reportada en su hemisferio de origen. Trucha café presentó rangos de tallas (15-54 cm LH) y edades (1-4 años) más restringidos que salmón chinook, sin evidencia de migraciones oceánicas de larga distancia.

Se capturó individuos de salmón coho entre 0 y 3 años de edad, identificándose el ingreso al mar tanto de smolt S0 como S1, con tallas 13,7 y 78 cm LH. Los ejemplares capturados de trucha arcoiris mostraron un rango de edades entre 1 y 3 años y de tallas entre 15,4 y 62,3 cm LH, con dos grupos modales diferenciables, al menos en 2009. Los 6 individuos capturados de salmón del Atlántico correspondieron a individuos de 2 años, entre 44,9 y 56,5 cm (LH).

Sólo 222 (29,7%) de los 748 estómagos de salmónidos muestreados en el Fiordo Aysén presentó algún tipo de contenido estomacal, con un espectro de presas que incluyó 24 taxa. Salmón chinook

y trucha café presentaron hábitos preferentemente piscívoros, donde Actinopterygii presentó índices de importancia relativa, IIR (verano-invierno), de 88-98% y 98-77%, respectivamente. En estas dos especies se destacan importantes niveles de predación sobre la familia Nototheniidae, particularmente en verano.

Salmón coho presentó niveles intermedios de piscivoría (IIR=58-81%), exhibiendo un consumo de crustáceos sustancialmente mayor que salmón chinook y trucha café. Finalmente, trucha arcoiris fue la especie con más estómagos vacíos y menores niveles de piscivoría. En efecto ninguno de los 17 estómagos analizados presentó peces en su contenido, el que fue dominado por Insecta (IIR=43-33%) y Crustácea (IIR=33-66%).

Los salmónidos de vida libre presentes en el Fiordo Aysén durante el período de estudio presentaron índices de estado trófico (p) entre 0,49 y 0,77. Es decir, fueron capaces de alcanzar entre un 49 y un 77% del máximo consumo esperado de alimento. Llamó la atención que los mayores valores de p fueron estimados para las dos especies asilvestradas: salmón chinook y trucha café, mientras que los valores más bajos correspondieron a especies presumiblemente escapadas de cultivo: salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico.

Las estimaciones de consumo individual promedio de peces nativos por salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén fue estimado en un rango entre 12,8 y 121,4 g·día⁻¹, con los mayores valores estimados para salmón coho y los menores para salmón del Atlántico. En el caso de los peces escapados (salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico, estas estimaciones mostraron ser muy sensibles a la talla media de los individuos escapados y a la tasa de mortalidad natural asumida para cada especie.

La abundancia estimada de salmónidos de vida libre escapados desde centros de cultivo (salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico) presentó grandes fluctuaciones a lo largo del período evaluado, respondiendo al efecto de escapes masivos registrados en 2004, 2007 y 2008. La probabilidad media de escapes catastróficos en centros de mar ubicados al sur de Puerto Montt fue estimada en 0,058·centro de cultivo⁻¹·año⁻¹ ± 0.0051 (EE), para el período 1993-2009, mientras que la abundancia y masa individual promedio de estos mismos escapes fueron estimadas en 81.460 ind·evento⁻¹ ± 232.470 (DS) y 1121 g ± 1166 (DS), respectivamente.

Al cruzar e integrar las tasas de consumo individual y las abundancias proyectadas para cada especie, talla y día de modelación fue posible estimar un consumo anual promedio de especies nativas por salmónidos de vida libre de 11.245 ton·año⁻¹, con valores mínimos de 813 ton en 2003, y máximos de 13.960 ton en 2008. Las principales taxa consumidas durante el período modelado correspondieron a crustáceos (6.300 ton·año⁻¹), pejerrey (2.150 ton·año⁻¹) y sardina austral (1.950 ton·año⁻¹). El consumo promedio estimado de merluza austral alcanzó a 60 ton·año⁻¹.

En relación a las siembras de salmónidos en la Región, éstas han involucrado salmón chinook (*O. tshawytscha*), salmón coho (*O. kisutch*), trucha arcoiris (*O. mykiss*), trucha café (*S. trutta*), salmón sakura (*O. masou*), salmón keta o chum (*O. keta*) y salmón del Atlántico (*S. salar*). Sin embargo, sólo algunas de ellas han sido exitosas, con evidencia de poblaciones auto-sustentadas de salmón chinook, trucha arcoiris, trucha café y, posiblemente, salmón coho. Las ovas efectivamente importadas a Chile en el periodo 1977-2000 alcanzaron un total de 9,3 millones, siendo los principales países de origen Estados Unidos, Canadá y Nueva Zelanda. El éxito invasivo de salmón chinook en toda la patagonia a partir de sólo dos puntos de liberación masiva en la Isla de Chiloé y

la Región de Magallanes contrasta con los magros resultados del mayor programa de introducción del salmónidos del hemisferio sur (“Programa de introducción de salmón del Pacífico en Chile”) que fracasó en establecer pesquerías comerciales de salmón sakura, salmón keta y salmón pink, después de una liberación de más de 26 millones de juveniles en la primera mitad de los años 70.

La revisión bibliográfica y evaluación económica sobre el uso de marcadores genéticos para evaluar escape de salmónes destacó el potencial uso de marcadores del tipo nuclear y mitocondrial, aplicados en la identificación genética de parentesco, análisis de pedigrree, estructuración genética, mapas genéticos e identificación de loci de caracteres cuantitativos. De los marcadores moleculares revisados y que podrían ser utilizados para la identificación de salmónes escapados destacan los loci microsatélites polimórficos. La eventual implementación de estas técnicas en Chile se vería favorecida por el importante número de investigadores y laboratorios de biología molecular existentes en entidades públicas y privadas, aunque ninguno de ellos presta aún servicios de identificación de origen de salmónidos de vida libre. El presente proyecto entrega un manual técnico para la utilización de marcadores moleculares para la identificación de salmónes escapados utilizando como modelo de estudio *Oncorhynchus kisutch*.

Para la evaluación de la factibilidad del uso de marcadores microsatélites se probaron 7 parejas de partidores descritos en la literatura sobre un universo de 244 muestras de salmón coho, provenientes de 5 centros de cultivos, y 78 muestras de individuos de vida libre capturados en el Fiordo de Aysén. La totalidad de estos individuos fue clasificada como escapados en base a rasgos morfológicos y análisis de otolitos, lo que no permitió contar con muestras de individuos asilvestrados presentes en el mismo Fiordo. Entre 76 y 88 % de los individuos fue auto-asignado correctamente a su propio centro de cultivo, observándose un alto índice de diferenciación genética R_{st} (0.02-0.697) y F_{st} (0.034-0.250) y concluyéndose que cada centro tiene un perfil genético propio. De los 78 ejemplares de vida libre, 28 individuos fueron asignados a los cinco centros caracterizados molecularmente. Estos resultados indican la efectividad y factibilidad de utilizar loci microsatélites con un $\alpha = 0.01$ para identificar el centro de origen de salmónidos escapados.

Los 50 individuos capturados en el fiordo y no asignados a alguno de los cinco centros caracterizados podrían provenir de otros planteles y/o de otros centros. De este modo una asignación efectiva de origen para fines legales o de manejo requeriría de la implementación de un programa de vigilancia molecular permanente y extensivo, que permitiera generar perfiles genéticos para todos los centros de cultivo y/o cepas presentes en el fiordo.

En síntesis, el presente proyecto permitió caracterizar y estimar las tasas de consumo individual de los salmónidos de vida libre sobre las especies nativas presentes en el Fiordo Aysen. Mientras que estos resultados deben ser afinados, reduciendo la magnitud de fuentes de incertidumbre y sesgo, como la mortalidad natural de los peces escapados, ofrecen una base para evaluar las consecuencias ecológicas, económicas y sociales del escape de salmónidos en el sur de Chile. El desarrollo de los objetivos 4 y 5 por su parte, permitió evaluar y demostrar la factibilidad de utilizar métodos moleculares para identificar el origen de los peces escapados y poder vincular efectos y responsabilidades en futuras regulaciones y medidas de manejo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo y Secretaría Ejecutiva del Fondo de Investigación Pesquera, y a la Subsecretaría de Pesca por su apoyo institucional y financiero al presente Proyecto.

Al Programa COPAS-Sur Austral que financió actividades científicas y de muestreo complementarias.

A los armadores y tripulantes de las embarcaciones Don Jorge II y Elher I por el trabajo desempeñado y por compartir sus conocimientos y experiencia en el área de estudio.

A don Maximino Astudillo pescador artesanal y armador del B/M Lago Riesco II y a los señores Sixto Andrade, Antonio Villarroel, Fernando Contreras y Mauricio Flores, también pescadores artesanales. Todos ellos colaboraron con las duras tareas de terreno y, por sobre todo, aportaron su valioso conocimiento del Fiordo Aysen y sus pesquerías.

A la Dra. Jessica Miller y al Dr. Miguel Pascual por su colaboración y sugerencias para el éxito de este proyecto.

A todos los gerentes, técnicos y administrativos de las empresas y centros de acuicultura del Fiordo y Cuenca del Río Aysén que colaboraron en la realización de este proyecto.

ÍNDICE GENERAL

Resumen Ejecutivo.....	v
Antecedentes generales.....	1
Objetivos.....	2
Objetivo general.....	2
Objetivos específicos.....	2
Metodología general.....	3
Área y período de estudio.....	3
Presentación de resultados por objetivo.....	6
I.Fluctuación temporal de la estructura de edad, distribución de tallas, peso, sexo, IGS, índice de condición y composición de la dieta y relaciones tróficas de los salmonídeos de vida libre en el Fiordo Aysén (objetivo 1).....	6
1. Introducción	6
2. Materiales y métodos.....	6
2.1. Muestreo de fauna íctica.....	6
2.1.1.Características de los aparejos de pesca utilizados.....	7
2.1.2.Campañas de pesca de investigación	7
2.1.3.Monitoreo de capturas incidentales.....	9
2.1.4.Muestreo de ejemplares provenientes de centros de cultivo.....	9
2.1.5.Muestreo de individuos desovantes y carcazas.....	10
2.1.6.Procedimiento de muestreo en campañas en el Fiordo Aysén.....	13
2.2. Composición de tallas.....	14
2.3. Relación longitud peso y factor de condición.....	15
2.4. Composición y diversidad específica.....	16
2.4.1.Índice de Riqueza Específica.....	16
2.4.2.Índice de diversidad de Shannon.....	16
2.5. Proporción sexual.....	17
2.6. Captura por unidad de esfuerzo.....	18
2.7. Análisis de la estructura de edad.....	19

2.8. Análisis de composición de edades de la captura.....	25
2.9. Análisis de composición de la dieta.....	26
2.10. Muestreo experimental de retornantes con métodos video-acústicos.....	26
2.10.1. Estimación de la talla individual y número de retornantes.....	28
3. Resultados.....	28
3.1. Composición y diversidad de la fauna íctica.....	28
3.2. Abundancia relativa de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén (CPUE).....	34
3.2.1. Salmón chinook.....	34
3.2.2. Trucha café.....	35
3.2.3. Salmón coho.....	36
3.2.4. Trucha arcoiris.....	36
3.3. Estructura de tallas de salmónidos en el Fiordo Aysén.....	37
3.3.1. Salmón chinook.....	37
i. Variación temporal de la composición de tallas.....	38
ii. Variación espacial de la composición de tallas.....	39
3.3.2. Trucha café.....	43
i. Variación temporal de la composición de tallas.....	45
ii. Variación espacial de la composición de tallas.....	47
3.3.3. Salmón coho.....	49
i. Variación temporal de la composición de tallas.....	51
ii. Variación espacial de la composición de tallas.....	52
3.3.4. Trucha arcoiris.....	54
i. Variación temporal de la composición de tallas.....	55
ii. Variación espacial de la composición de tallas.....	57
3.3.5. Salmón del Atlántico.....	59
3.4. Relación Talla-peso, Factor de condición e IGS.....	59
3.4.1. Talla - peso.....	59
3.4.2. Factor de condición e IGS.....	61
3.5. Proporción sexual.....	63
3.6. Edad y crecimiento.....	66
3.6.1. Caracterización de escamas y otolitos de peces de edad conocida.....	66

3.6.2. Análisis de precisión.....	67
3.6.3. Modelos de crecimiento.....	67
i. Salmón chinook.....	67
ii. Trucha café.....	68
iii. Salmón coho.....	71
iv. Trucha arcoiris.....	72
3.6.4. Estructura de edades.....	74
3.7. Muestreo experimental de adultos retornantes con tecnología video-acústica.....	79
3.8. Análisis de composición de la dieta.....	81
3.8.1. Análisis general.....	81
3.8.2. Composición de la dieta de salmón chinook.....	86
3.8.3. Composición de la dieta de trucha café.....	87
3.8.4. Composición de la dieta de salmón coho.....	88
3.8.5. Composición de la dieta de trucha arcoiris.....	90
4. Discusión.....	91
4.1. Composición y diversidad de la fauna íctica.....	91
4.2. Abundancia relativa de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén (CPUE).....	92
4.3. Estructura de tallas de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén.....	93
4.4. Edad y crecimiento.....	94
4.5. Composición de la dieta de los salmónidos de vida libre presentes en el Fiordo Aysén.....	96
4.6. Muestreo experimental de adultos retornantes con tecnología video-acústica.....	97
II. Cuantificar y estimar las tasas de consumo y posibles efectos tróficos producidos por la composición dietaria de los salmonídeos (objetivo 2).....	99
1. Introducción.....	99
2. Materiales y métodos.....	100
2.1. Sub-modelo de consumo de alimento a la talla.....	100
2.1.1. Modelos bioenergéticos.....	101
2.1.2. Modelo de distribución de temperatura en el fiordo.....	101
2.2. Modelo de crecimiento en talla y peso	102
2.3. Matriz de composición de presas a la talla y la edad	103
2.4. Sobrevivencia.....	106

2.5. Estimación de mortalidad natural a partir de modelos empíricos.....	106
2.6. Distribución y dispersión ontogenética de salmónidos (escapados y asilvestrados).....	106
2.7. Tamaño poblacional de salmónidos escapados y de vida libre.....	106
3.Resultados.....	108
3.1. Estimación de mortalidad natural a partir de modelos empíricos.....	108
3.2. Estado trófico y tasas individuales de consumo de alimento.....	108
4.Discusión.....	116
4.1. Abundancia.....	118
4.2. Mortalidad.....	119
4.3. Estructura de tallas	119
4.4. Edad y crecimiento.....	120
4.5. Dieta.....	120
III.Información sobre siembras de salmónidos en el ambiente natural e incidencia de escapes desde centros de cultivo en la Región de Aysén, referenciada geográficamente (objetivo 3).....	122
1.Historia de siembras de salmónidos en Aysén.....	122
1.1. Introducción.....	122
1.2. Materiales y métodos.....	123
1.2.1.Bases de datos.....	123
1.2.2.Entrevistas.....	123
1.3. Resultados.....	125
1.3.1.Importación de ovas de salmón chinook.....	125
i.Importación potencial.....	125
ii.Importación efectiva.....	126
1.3.2.Siembras de salmón chinook.....	127
1.3.3.Siembras de salmón coho.....	131
1.3.4.Siembras de salmón sakura (<i>Oncorhynchus masou</i>), keta (<i>Oncorhynchus keta</i>) y salmón rosado (<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>).....	132
2. Escapes de salmónidos en la Región de Aysén.....	134
2.1. Introducción.....	134
2.2. Materiales y métodos.....	134

2.3. Resultados.....	134
3.Discusión.....	136
IV. Revisión bibliográfica y evaluación económica sobre el uso de marcadores genéticos para evaluar escapes de salmones. Determinar cuál es la metodología más apropiada para diferenciar el origen de los peces, referido a origen silvestre o escape de sistemas de cultivo (objetivo 4).....	137
1. Introducción	137
1.1. Acuicultura de salmónidos y escapes.....	137
2. Materiales y métodos.....	138
2.1. Revisión bibliográfica sobre el uso de marcadores genéticos para evaluar escapes de salmones.....	138
2.1.1. Revistas nacionales (incluyendo algunas discontinuadas).....	139
2.1.2. Revistas internacionales.....	139
2.1.3. Tesis de pre y postgrado.....	140
2.1.4. Biblioteca y base de datos de proyectos disponibles en SERNAPESCA, Subsecretaría de Pesca e IFOP.....	140
2.1.5. Agencias de promoción y financiamiento de investigación científica y tecnológica.....	140
2.1.6. Material disponible en bases de datos nacionales e internacionales.....	140
3. Resultados.....	141
3.1. Estado del arte respecto a metodologías moleculares aplicables para la determinación de peces escapados.....	141
3.2. Iniciativas mundiales para la detección de peces escapados y su impacto en poblaciones naturales.....	144
3.3. Fundamentación de la metodología más apropiada para diferenciar el origen de salmónidos de vida libre (origen silvestre o escapado).....	144
3.4. Evaluación económica sobre el uso de marcadores genéticos para evaluar escapes de salmones desde centros de cultivo	146
3.5. Capacidad nacional de laboratorios o grupos de investigación a nivel gubernamental, académico y privada, para implementar la metodología propuesta para Chile.	147
3.6. Análisis FODA para marcadores moleculares aplicado en la identificación de salmones escapados.....	150
3.6.1. Fortalezas.....	150
3.6.2. Oportunidades.....	150
3.6.3. Debilidades	151
3.6.4. Amenazas.....	151

4. Guía metodológica para la implementación de técnicas moleculares en la identificación de salmónidos escapados desde centros de cultivos. <i>Oncorhynchus kisutch</i> un caso de estudio.....	152
4.1. Introducción.....	152
4.2. Objetivos del manual.....	152
4.3. Tamaño de la muestra.....	152
4.4. Manipulación, almacenamiento y transporte de las muestras.....	153
4.5. Guía e instrucciones de muestreo en campo	153
4.5.1. Desde musculatura blanca o aleta:.....	153
4.5.2. Desde células sanguíneas:.....	154
5. Protocolos de Extracción de ADN.....	154
5.1. Protocolo de Extracción Sales.....	154
5.1.1. Protocolo de extracción de ADN (CTAB-PVP).....	155
5.1.2. Extracción de DNA con fenol - cloroformo	155
5.1.3. Otros protocolos.....	156
5.2. Marcadores moleculares: Microsatélites.....	157
5.2.1. Análisis de loci microsatélites para determinación de origen de salmónes escapados; <i>O. kisutch</i>	158
5.3. Análisis estadísticos de las muestras	160
5.4. Análisis estadístico para la comparación genética de ejemplares escapados & muestras provenientes de centros de cultivo.....	161
6. Programas de asignación y parentesco:.....	162
7. Perfil del equipo técnico.....	163
8. Montaje de laboratorio.....	163
9. Discusión.....	165
V. Comprobar la factibilidad de aplicar esta metodología en el Fiordo Aysén con la caracterización de salmonídeos capturados (objetivo 5).....	166
1. Introducción.....	166
2. Materiales y métodos.....	166
2.1. Muestras.....	166
2.2. Extracción de de ADN y amplificación de loci microsatélites	167

2.3. Protocolo de amplificación por PCR y análisis de fragmentos de microsatélites en <i>O. kisutch</i>	167
2.4. Análisis estadísticos de las muestras	170
2.5. Errores de genotipado y frecuencia de alelos nulos.....	171
2.6. Estructuración poblacional.....	171
2.6.1. Test de asignación de muestras del Fiordo Aysén “Escapados”	171
3. Resultados.....	172
3.1. Errores de genotipado, frecuencia de alelos nulos y parámetros de variabilidad genética....	172
3.2. Estructuración poblacional Rst por pares y por locus.....	172
3.3. Estructuración poblacional basada en clúster.....	172
3.4. Test de auto-asignación de centros y asignación muestras del fiordo a los centros.....	173
4. Discusión	177
4.1. Variabilidad genética y estructuración poblacional inter-centros.....	177
4.1.1. Asignación/exclusión de ejemplares escapados	177
4.1.2. Marcadores moleculares: una herramienta de gestión ambiental.....	178
Conclusiones generales.....	179
Referencias.....	180

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Periodos en que se realizaron las campañas de pesca de investigación efectuadas en el Fiordo Aysén, años 2009 - 2010.....	4
Tabla 2: Campañas de pesca de investigación y monitoreo de pesca artesanal efectuados en el Fiordo Aysén años 2009 – 2010. Número de lances con redes de enmalle y espineles en cada campaña	8
Tabla 3: Sitios muestreados de cada zona en que se dividió el Fiordo Aysén durante el periodo de estudio.....	8
Tabla 4: Número de ejemplares muestreados desde distintos centros que operaban en el Fiordo Aysén durante el periodo de estudio (SCO:salmón coho; SAT: salmón del Atlántico).....	9
Tabla 5: Resumen de estudios realizados en la Región de Aysén y de información recogida a partir de entrevistas relacionada con salmones chinook y coho (se indican observaciones mencionadas para la Región de Aysén. ER: época reproductiva).	11
Tabla 6: Estados de madurez gonadal de machos y hembras de salmónidos, de acuerdo a escala macroscópica internacional. Adaptada por Niklitschek & Aedo (2002).....	14
Tabla 7: Criterios de identificación empleados para identificar marcas o anillos intepretables como eventos biológicamente relevantes en otolitos y escamas de salmónidos de vida libre capturados en el Fiordo Aysén.....	20
Tabla 8: Fechas asumidas de nacimiento de las especies estudiadas y supuestos empleados para el cálculo de las mismas. HS: hemisferio sur (ovas nacionales), HN: hemisferio norte (ovas importadas).	24
Tabla 9: Lugares de muestreo de salmónidos retornantes efectuadas en la cuenca del Río Aysén con cámara video acústica DIDSON, año 2010.....	27
Tabla 10: Longitud de la sección del río muestreada, número de estaciones, intervalos de muestreo y tasas de muestreo por intervalo en campañas de monitoreo video-acústico efectuadas en los ríos Aysén, Simpson y Mañihuales.....	27
Tabla 11: Listado de especies nativas capturadas en el Fiordo Aysén y captura según arte de pesca, en el área y periodo de estudio.....	29
Tabla 12: Número de salmónidos muestreados de las capturas del fiordo y cuenca del río Aysén (2009-2010). Pesca artesanal corresponde al muestreo de la captura incidental de salmónidos en Puerto Chacabuco.....	30
Tabla 13: Tabla de devianza del ajuste del glm para explicar la variabilidad de la CPUE del salmón chinook en el Fiordo Aysén entre mayo de 2009 y septiembre de 2010. corresponde a la probabilidad (test de chi-cuadrado) de que la razón de verosimilitud de los modelos (alternativo y nulo) sea igual a uno.....	35
Tabla 14: Tabla de devianza del ajuste del glm para explicar la variabilidad de la CPUE de la trucha café en el Fiordo Aysén entre mayo de 2009 y septiembre de 2010. corresponde a la probabilidad (test de chi-cuadrado) de que la razón de verosimilitud de los modelos (alternativo y nulo) sea igual a uno.	35
Tabla 15. Tabla de devianza del ajuste del glm para explicar la variabilidad de la CPUE del salmón coho en el Fiordo Aysén entre mayo de 2009 y septiembre de 2010.....	36

Tabla 16: Tabla de devianza del ajuste del glm para explicar la variabilidad de la CPUE de la trucha arcoiris en el Fiordo Aysén entre mayo de 2009 y septiembre de 2010. corresponde a la probabilidad (test de chi-cuadrado) de que la razón de verosimilitud de los modelos (alternativo y nulo) sea igual a uno.....	36
Tabla 17. Valores de los parámetros de la relación talla-peso, intervalos de confianza y nivel de significancia para los salmónidos presentes en el Fiordo Aysén, 2009 – 2010. $p(>t)$ corresponde a la probabilidad (test de t) de que el valor del parámetro sea igual a cero.....	61
Tabla 18. Tamaño de muestra para el análisis de la proporción sexual de los salmónidos en el Fiordo Aysén entre marzo de 2009 y septiembre de 2010.....	65
Tabla 19: Coeficiente de variación e índice de precisión (en paréntesis) por especie y global correspondientes a la cuantificación del número de annuli a través de métodos basados en la lectura de otolitos, de escamas y de la integración de ambas técnicas.	67
Tabla 20: Parámetros de los modelos de crecimiento individual ajustados a la información de edad y longitud horquilla obtenida para salmón chinook en el Fiordo Aysén (2009-2010). AIC: criterio de información de Akaike. n= 40 observaciones.....	68
Tabla 21: Parámetros de los modelos de crecimiento individual ajustados a la información de edad y longitud de horquilla obtenida para trucha café en el Fiordo Aysén (2009-2010). AIC: criterio de información de Akaike. n= 34 observaciones.....	70
Tabla 22: Parámetros de los modelos de crecimiento individual ajustados a la información de edad y longitud de horquilla obtenida para salmón coho en el Fiordo Aysén (2009-2010). AIC: criterio de información de Akaike. n= 58 observaciones.....	72
Tabla 23: Parámetros de los modelos de crecimiento individual ajustados a la información de edad y longitud de horquilla obtenida para trucha arcoiris en el Fiordo Aysén (2009-2010). AIC: criterio de información de Akaike. n= 32 observaciones.....	73
Tabla 24: Clave talla-edad salmón chinook, ambos sexos. Fiordo Aysén 2009-2010.....	75
Tabla 25: Clave talla-edad trucha café, ambos sexos, Fiordo Aysén (2009-2010).....	76
Tabla 26: Clave talla-edad salmón coho, ambos sexos, Fiordo Aysén (2009-2010).....	77
Tabla 27: Clave talla-edad trucha arcoiris, ambos sexos. Fiordo Aysén (2009-2010).....	78
Tabla 28: Densidad estimada y número esperado de avistamientos para salmón chinook y coho en distintos puntos de la cuenca del Río Aysén, 2010.....	80
Tabla 29: Número de estómagos de salmones con contenido orgánico por especie salmonídea.....	82
Tabla 30: Listado de presas encontradas en estómagos de salmónidos capturados en el Fiordo Aysen 2009-2010. n.i.: no identificado.....	84
Tabla 31: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para salmón chinook en verano.....	86
Tabla 32: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para salmón chinook invierno.....	87
Tabla 33: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para trucha café, verano.....	88

Tabla 34: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para trucha café, invierno.....	88
Tabla 35: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para salmón coho verano.....	89
Tabla 36: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para salmón coho invierno.....	89
Tabla 37: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para trucha arcoiris verano.....	90
Tabla 38: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para trucha arcoiris invierno.....	90
Tabla 39: Porcentaje de captura por especies salmonídeas en el trabajo de Soto et al. (1997) y en el presente estudio.....	92
Tabla 40: Parámetros del modelo predictivo de densidad energética (J·g ⁻¹) de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén (2009-2010) en función de la longitud horquilla (cm). representa la pendiente común, mientras que los suscritos SCH=salmón chinook, TCA=trucha café, SCO=salmón coho y TAA=trucha arcoiris denotan los distintos interceptos especie-específicos.	103
Tabla 41: Parámetros del modelo predictivo de densidad energética en función del peso total de salmónidos de vida libre capturados en el Fiordo Aysén.....	103
Tabla 42: Densidad energética estimada o asumida para las distintas presas incorporadas a la modelación bioenergética del impacto trófico de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén (2003-2009). Valores medidos directamente por los autores o tomados de la literatura (ver fuente).....	105
Tabla 43: Eventos de escapes masivos de salmónidos de cultivo registrados en el Fiordo Aysén (2003-2009).....	107
Tabla 44: Mortalidad natural por especie y clase de edad estimada en base a métodos empíricos disponibles en la literatura. LH: promedio de longitud de horquilla por clase de edad, utilizado por el modelo de Gislason et al (2010).....	108
Tabla 45: Valores estimados del índice de estado trófico y consumo por recluta en unidades de energía (J) y masa (g), correspondientes a salmónidos de vida libre capturados en el Fiordo Aysén entre 2008 y 2010.	109
Tabla 46: Valores estimados del consumo individual de los principales ítemes alimentarios identificados en los estómagos de las especies de salmónidos de vida libre capturados en el Fiordo Aysén. Sólo la clase Actinopteyigii ha sido desagregada en taxa menores (familia, orden o especie)...	110
Tabla 47: Mediana y cuartiles de la distribución de consumos totales anuales promedio (2003-2009) de ítemes alimentarios identificados en los estómagos de salmónidos de vida libre capturados en el Fiordo Aysén. Sólo clase Actinopteyigii desagregada en taxa menores (familia, orden o especie).....	116
Tabla 48: Variables recogidas desde bases de datos digitales e impresas y entrevistas.....	124
Tabla 49: Entrevistas sobre introducción y siembras de salmón chinook en Chile, previo a la creación de la Subsecretaría de Pesca.....	124
Tabla 50: Origen de ovas de salmón chinook en autorizaciones de importación en el periodo 1977–2000 (Subsecretaría de Pesca 2007). *Porcentaje sobre el total de autorizaciones de importación. **	

Porcentaje sobre el total de ovas en Estados Unidos. *** Representación porcentual del proveedor en el total de ovas.....	126
Tabla 51: Origen de ovas de salmón chinook importadas a Chile entre 1977 y 2000 (SERNAPESCA 2007); 1: Región de Los Lagos, 2: Región de Aysén, 3: Región de Magallanes, 4: centro de cultivo...	127
Tabla 52: Siembras de salmón chinook en Chile, 1970-2010.	129
Tabla 53: Primeras liberaciones de alevines de salmón chinook efectuadas por Fundación Chile entre los años 1982 y 1989 (*Proyectado, fuente: Méndez y Munita, 1989).....	131
Tabla 54: Listado de información recopilada a partir de datos entregados por SERNAPESCA.....	135
Tabla 55: Costos asociados a la implementación de un laboratorio de biología molecular básico para evaluar escapes de salmones.....	146
Tabla 56: Costos asociados a la aplicación de la metodología molecular propuesta por locus microsatélite.....	147
Tabla 57: Nombre, dirección, e-mail y teléfono de investigadores a nivel gubernamental, académico y privada, para implementar la metodología propuesta para Chile.	147
Tabla 58: Características de microsatélites útiles para la evaluación de ejemplares escapados desde centros del salmónido <i>O. kisutch</i>	159
Tabla 59: Condiciones de amplificación para los microsatélites Ogo2, Ogo1a, Ocl8, OMM1121 y Oki1, en el salmónido <i>O. kisutch</i>	160
Tabla 60: Condiciones de amplificación para los microsatélites OMM1128 y Oneµ2, en el salmónido <i>O. kisutch</i>	160
Tabla 61: Representación de la base de datos multilocus para microsatélites en <i>O. kisutch</i>	161
Tabla 62: Materiales y reactivos necesarios para montar un laboratorio.....	164
Tabla 63: Características de microsatélites ensayados para la evaluación de ejemplares escapados desde centros del salmónido <i>O. kisutch</i> . Microsatélites en cursiva se utilizaron finalmente para la evaluación de individuos escapados.....	168
Tabla 64: Programas de amplificación para los loci microsatélites en estudio en el salmónido <i>O. kisutch</i>	169
Tabla 65: Condiciones de amplificación para los microsatélites Ogo2, Ogo1a, Ocl8, OMM1121 y Oki1, en el salmónido <i>O. kisutch</i>	170
Tabla 66: Condiciones de amplificación para los microsatélites OMM1128 y Oneµ2, en el salmónido <i>O. kisutch</i>	170
Tabla 67: Parámetros de variabilidad genética de <i>Oncorhynchus kisutch</i> para siete loci microsatélites en las localidades bajo estudio (N: número de muestras utilizadas en el análisis; Na: número de alelos; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada; H&W: valor de probabilidad para el test de equilibrio de Hardy & Weinberg.).....	173
Tabla 68: Valores de estadístico Rst (bajo la diagonal), para microsatélites de <i>Oncorhynchus kisutch</i> en las localidades en estudio, y valor de probabilidad asociada (sobre la diagonal) con bootstrap de 10.000.	175
Tabla 69: Resultado de pruebas de auto-asignación utilizando el método de asignación directa Bayesiano en GeneClass 1.0 (Cornuet et al. 1999), (números en negrita representan el número de peces	

correctamente asignados a una muestra de Centro; los otros números representan individuos asignados a otros centros, tomando como criterio de asignación desde 99%.....	176
Tabla 70: Resultados de asignación directa y exclusión de 78 individuos recolectados desde el Fiordo Aysén (“escapados”) a los cinco centros de referencia provenientes del mismo fiordo.....	176
Tabla 71: Ejemplos en especies, métodos utilizados, resultados y referencias en la identificación de peces escapados.....	202
Tabla 72: Listado de asistentes al taller de discusión metodológica realizado en Puerto Aysén.....	209

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ubicación de lances realizados con red de enmalle y espinel en cada zona en que se dividió el Fiordo Aysén con motivo del estudio (muchos de los lances se encuentran superpuestos; coordenadas en grados).....	4
Figura 2: Cuenca del Río Aysén y sus principales tributarios. ●: muestreo de individuos desovantes y/o carcasas de salmones chinook y coho; ×: muestreo de retornantes con cámara video-acústica DIDSON.	5
Figura 3: Ejemplo de interpretación de anillos anuales y anillos asociados a eventos relevantes de la historia de vida de un salmón coho de vida libre capturado en el Fiordo Aysén. I1, I2 y I3: inviernos, S: esmoltificación, T: traslado entre centros de cultivo, E: escape. Ver criterios de interpretación en Tabla 7.....	21
Figura 4: Zona de extracción de escamas para estimación de edad en salmónidos capturados en el Fiordo Aysén (2009-2010).....	23
Figura 5: Montaje de la cámara DIDSON para evaluación de retornantes de salmones chinook y coho en la cuenca del Río Aysén, año 2010.....	27
Figura 6: Composición específica global dentro de la captura total de peces (izquierda) y del sub-grupo de los salmónidos (derecha) en el Fiordo Aysén (2009-2010).....	30
Figura 7: Composición específica por zona dentro de la captura total de peces (izquierda) y del sub-grupo de los salmónidos (derecha) en el Fiordo Aysén (2009-2010).....	32
Figura 8: Índice de diversidad de Shannon e índice de riqueza específica de Margalef para la comunidad de peces presente en el Fiordo Aysén entre mayo del 2009 y septiembre de 2010.....	33
Figura 9: CPUE estándar estacional de salmón coho, salmón chinook, trucha arcoiris y trucha café en el Fiordo Aysén entre mayo del 2009 y septiembre de 2010.....	34
Figura 10: Estructura de tamaños del salmón chinook capturados con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2009 y 2010.....	38

Figura 11: Estructuras de tallas mensuales del salmón chinook capturados con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2009.....	40
Figura 12: Estructura mensual de tamaños del salmón chinook capturados con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2010.....	41
Figura 13: Estructura de tallas del salmón chinook capturados con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2009.....	42
Figura 14: Estructura de tallas del salmón chinook capturados con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2010.....	43
Figura 15: Estructura de tamaños de la trucha café capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén años 2009 y 2010.....	44
Figura 16: Estructura de tallas mensual de trucha café capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2009.....	46
Figura 17: Estructura de tallas mensual de trucha café capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2010.....	47
Figura 18: Estructura de tallas de trucha café capturadas con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2009.....	48
Figura 19: Estructura de tallas de trucha café capturadas con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2010.....	49
Figura 20: Estructura de tamaños del salmón coho capturado con redes de enmalle en el Fiordo Aysén, años 2009-2010.....	50
Figura 21: Estructura de tallas mensuales del salmón coho capturados con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2009.....	51
Figura 22: Estructura de tallas mensuales del salmón coho capturado con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2010.....	52
Figura 23: Estructura de tamaños del salmón coho capturados con redes de enmalle en las tres zonas de estudio del Fiordo Aysén durante el año 2009.....	53
Figura 24: Estructura de tamaños del salmón coho capturados con redes de enmalle en las tres zonas de estudio del Fiordo Aysén durante el año 2010.....	54
Figura 25: Estructura de tamaños de la trucha arcoiris capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén, años 2009 y 2010.....	55
Figura 26: Estructura de tallas mensual de trucha arcoiris capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2009.....	56
Figura 27: Estructura de tallas mensual de trucha arcoiris capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2010	57
Figura 28: Estructura de tallas de trucha arcoiris capturadas con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2009.....	58
Figura 29: Estructura de tallas de trucha arcoiris capturadas con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2010.....	59

Figura 30: Relación talla-peso de los salmónidos presentes en el Fiordo Aysén entre marzo del 2009 y septiembre de 2010.....	60
Figura 31: Factor de condición de Le Cren de los salmónidos presentes en el Fiordo Aysén entre marzo del 2009 y septiembre de 2010.....	62
Figura 32: Índice gonadosomático de los salmónidos presentes en el Fiordo Aysén entre marzo del 2009 y septiembre de 2010.....	63
Figura 33: Frecuencia mensual de sexos por especie de salmónidos presentes en el Fiordo Aysén entre marzo del 2009 y septiembre de 2010 (color claro hembras, oscuro machos).	64
Figura 34: Frecuencia de sexos por especie de salmónidos presentes en las zonas de estudio del Fiordo Aysén en los años 2009 y 2010 (color claro hembras, oscuro machos).....	65
Figura 35: Izquierda: escama de salmón coho de edad conocida, adulto de 2 años sacrificado luego del desove en julio .Derecha: otolito de coho de edad conocida sacrificado luego del desove en mayo (I1,2,3: inviernos 1, 2 y 3 respectivamente; T: transición al mar; M: madurez reproductiva).....	66
Figura 36: Modelo de crecimiento de Schnute, seleccionado (menor AIC) para representar la relación entre edad y talla de salmón chinook observada en el Fiordo Aysen, 2009-2010. Círculos negros identifican muestras clasificadas como ecotipo oceánico.....	69
Figura 37: Modelo de crecimiento de Schnute, seleccionado (criterio de información de Akaike) para representar la relación entre edad y talla de trucha café observada en el Fiordo Aysén, 2009-2010.....	70
Figura 38: Modelo de crecimiento de Schnute, seleccionado (menor AIC) para representar la relación entre edad y talla de salmón coho observada en el Fiordo Aysén, 2009-2010. Círculos negros identifican peces con evidencia de haber pasado su primer invierno en agua dulce (S1).....	71
Figura 39: Modelo de crecimiento de Schnute, seleccionado (menor AIC) para representar la relación entre edad y talla de trucha arcoiris observada en el Fiordo Aysén, 2009-2010.	73
Figura 40: Estructura de edades estimada para la captura de salmón chinook en el Fiordo Aysén (2009-2010).....	74
Figura 41: Estructura de edades estimada para trucha café en el Fiordo Aysén (2009-2010).....	76
Figura 42: Estructura de edades estimada para la captura de salmón coho en el Fiordo Aysén (2009-2010).....	78
Figura 43: Estructura de edades estimada para la captura de trucha arcoiris en el Fiordo Aysén (2009-2010).....	79
Figura 44: Estructura de tallas de individuos observados acústicamente con cámara DIDSON durante la época de retorno de salmón chinook en el Río Mañihuales, año 2010.....	80
Figura 45: Estructura de tallas de individuos observados acústicamente con cámara DIDSON durante la época de retorno de salmón coho en los ríos Aysén y Simpson.....	81
Figura 46: Caracterización de la dieta de especies salmonídeas por zona basados en los principales taxa.....	85
Figura 47: Abundancia (panel superior) y consumo total de presas por mes (panel inferior) estimados para salmón coho de vida libre en el Fiordo Aysén 2003-2009.....	111

Figura 48: Abundancia (panel superior) y consumo total de presas por mes (panel inferior) estimados para trucha arcoiris de vida libre en el Fiordo Aysén 2003-2009.....	112
Figura 49: Abundancia (panel superior) y consumo total de presas por mes (panel inferior) estimados para salmón del Atlántico de vida libre en el Fiordo Aysén 2003-2009.....	113
Figura 50: Abundancia (panel superior) y consumo total de presas por mes (panel inferior) estimados para salmón chinook de vida libre en el Fiordo Aysén 2003-2009.....	114
Figura 51: Abundancia estimada (panel superior) y consumo total de presas por mes (panel inferior) estimados para trucha café de vida libre en el Fiordo Aysén 2003-2009.....	115
Figura 52: Destino de ovas de salmón chinook (<i>O. tshawytscha</i>) autorizadas a ingresar al país en el periodo 1977 – 2000.....	125
Figura 53: Cultivo marino y de agua dulce de salmón chinook en el sur de Chile, 1970-2010.....	128
Figura 54: Siembras de salmónidos en la zona sur austral de Chile, 1960-2010.....	133
Figura 55: Desembarques (en toneladas) de tres principales recursos de salmónidos cultivados en Chile, datos desde 1991-2007 (Fuente Sernapesca 1991-2007).....	138
Figura 56: Representación gráfica de la estructura genética para las 314 muestras de <i>O. kisutch</i> , provenientes de Centros de cultivo y del Fiordo Aysén. Cada individuo está representado por a una barra vertical separada en segmentos de K colores con un largo proporcional a la membrecía estimada de cada clúster inferido. El número de poblaciones (K) más probable es siete.....	175

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Tabla suplementaria Objetivo 4	200
Anexo 2: Taller de discusión metodológica Proyecto FIP 2008-30.....	207
Anexo 3: Composición y organización del equipo de trabajo. Horas dedicadas al proyecto. Plan de actividades.....	212

ANTECEDENTES GENERALES

Desde las primeras iniciativas a principios del siglo XIX, orientadas a establecer poblaciones locales e impulsar la pesca recreativa, hasta el presente, en que se ha convertido en una de las actividades económicas más importantes del país, la salmonicultura ha concentrado importantes esfuerzos públicos y privados (Bluth et al. 2003). Producto de ello, existen poblaciones de salmónidos asilvestrados que sustentan una importante actividad de pesca deportiva (principalmente truchas y salmón chinook).

Sin embargo, siendo los salmónidos especies exóticas, existen riesgos e impactos asociados que deben ser identificados y cuantificados con rigurosidad. De acuerdo a Pascual y Ciancio (2007), desde un punto de vista ecológico existen tres aspectos relacionados que deben ser estudiados con atención: los factores que modulan el establecimiento de las poblaciones, el impacto de las especies introducidas en las comunidades nativas y las adaptaciones de estos peces a un nuevo ambiente.

El éxito de una especie invasora es determinado principalmente por las fluctuantes condiciones bióticas y abióticas que determinan la ventana de oportunidad para su establecimiento y, su permanencia y probabilidad de dispersión aumentan en la medida que la frecuencia de introducción se mantiene o incrementa. Por ello, es necesario verificar la existencia de poblaciones asilvestradas y caracterizar su hábitat. Por otra parte, aún cuando los salmónidos introducidos no puedan completar su ciclo de vida en el ambiente natural, las operaciones de acuicultura pueden sostener un repoblamiento anual manteniendo una biomasa circulante y generando impactos, exista o no éxito reproductivo en los peces escapados (Naylor et al. 2005). Lo anterior hace necesario evaluar la biomasa presente y dirigir esfuerzos a la discriminación de peces de cultivo entre los salmónidos de vida libre.

El escape de salmónes de los centros de cultivo no es una situación nueva en el contexto mundial. En el hemisferio norte, el efecto de la interacción de peces de cultivo sobre las poblaciones silvestres es una línea importante de investigación (Blann & Healey 2006; Fiske et al. 2006; Walker et al. 2006). En nuestro país no existen riesgos asociados a modificación de la estructura genética de poblaciones silvestres, tema de gran importancia para países como Canadá, Estados Unidos, Escocia y Noruega, pero permanecen los efectos potenciales de la interacción de salmónidos con el ecosistema.

Los estudios realizados en Chile sobre el impacto ambiental de la industria salmonera no han mostrado evidencia que sugiera un efecto adverso significativo, sin embargo no debemos ignorar que el cultivo intensivo de una especie exótica puede generar relaciones o consecuencias sobre los recursos nativos (Soto et al. 1997).

La engorda intensiva de salmónes en el sur de Chile se desarrolla en ensenadas, fiordos y bahías protegidas del viento para proteger las estructuras de oleajes y corrientes mareales. El anclaje requiere de cálculos de mareas y corrientes en climas extremos y comúnmente responden adecuadamente a los eventos climáticos. Sin embargo, en ocasiones, las corrientes u oleaje pueden exceder cálculos y sistemas de anclaje, con lo cual las estructuras de cultivo pueden soltarse y correr el riesgo de hundirse y perder los peces que se encuentran al interior.

Más aún, la ocurrencia de eventos catastróficos y no previsible, como un terremoto o un tsunami, no se calcula normalmente, por lo que es esperable que ante estas situaciones se produzcan escapes y mortalidades masivas de peces, difíciles de cuantificar.

Tal es el caso de lo ocurrido en abril de 2007 en el Fiordo Aysén, ocasión en la que se vieron afectados cerca de 10 millones de peces ubicados en distintos centros al interior del fiordo. Algunos de estos peces presumiblemente murieron, otros escaparon. Se estima que la cantidad de peces escapados puede haber rondado entre 1, 2 y 8 millones. Sin embargo, son sólo estimaciones indirectas.

Los salmones escapados pertenecen a razas seleccionadas por muchos años, con la finalidad de ser resistentes a enfermedades y presentar un rápido crecimiento. La sobrevivencia de estos ejemplares ante escapes masivos causa efectos negativos sobre las especies residentes utilizadas para pesca recreativa, generándose así un claro impacto sobre una emergente y prometedora actividad económica.

Actualmente, la autoridad no dispone de un sistema de verificación del efecto ecológico que los escapes de salmones puedan producir. Para ello, es importante generar un sistema que permita identificar si los peces capturados en el ambiente provienen de cepas silvestres o desde centros de cultivo, y en este caso, a qué empresa pertenecen.

Las metodologías moleculares modernas ofrecen la posibilidad de usar microsátélites o marcadores moleculares que permiten determinar la línea parental a la cual pertenece un determinado individuo. De esta manera, si se conoce la propiedad de las líneas parentales, será posible determinar a qué empresa pertenece un determinado pez. Tecnología que se ha utilizado para determinar sustracciones ilegales.

La tecnología para el desarrollo de esta metodología se encuentra disponible y en aplicación en Chile desde algunos años. Se estima necesario su desarrollo para la industria del salmón, estudiándose si aun es posible determinar alguna línea propia en los salmonídeos residentes en el Fiordo Aysén.

El presente informe reporta los resultados de las campañas ejecutadas entre mayo de 2009 y septiembre de 2010 con el fin de responder las interrogantes de cada objetivo del proyecto.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el impacto potencial de salmonídeos de vida libre en el Fiordo Aysén.

Objetivos específicos

Objetivo 1: Determinar la fluctuación temporal en un periodo anual de la estructura de edad, distribución de tallas, peso, sexo, IGS, índice de condición y composición de la dieta y relaciones tróficas de los salmonídeos de vida libre en el Fiordo Aysén.

- Objetivo 2: Cuantificar y estimar las tasas de consumo y posibles efectos tróficos producidos por la composición dietaria de los salmonídeos.
- Objetivo 3: Recopilar la información existente sobre siembras de salmónidos en el ambiente natural e incidencia de escapes desde centros de cultivo en la Región de Aysén, referenciándola geográficamente.
- Objetivo 4: Realizar una revisión bibliográfica y evaluación económica sobre el uso de marcadores genéticos para evaluar escapes de salmónes. Determinar cuál es la metodología más apropiada para diferenciar el origen de los peces, referido a origen silvestre o escape de sistemas de cultivo
- Objetivo 5: Comprobar la factibilidad de aplicar esta metodología en el Fiordo Aysén con la caracterización de salmonídeos capturados.

METODOLOGÍA GENERAL

Área y período de estudio.

El área de estudio comprendió tanto el Fiordo Aysén, área principal de estudio; como la cuenca del Río Aysén, donde se muestreo con el fin de monitorear retornantes de salmónes chinook y coho. En el Fiordo Aysén, se incluyó desde la barra del Río del mismo nombre (45°24' S, 72°48' W) hasta Caleta Vidal (45°15' S, 73°26' W). Para efectos de análisis, el Fiordo fue dividido en tres estratos horizontales (Figura 1).

Zona 1: Isla Elena-Grupo Cinco Hermanas

Zona 2: Grupo Cinco Hermanas-Isla Mentirosa

Zona 3: Isla Mentirosa-Barra del Río Aysén

Las campañas de muestreo en el Fiordo Aysén se realizaron entre mayo de 2009 y septiembre de 2010. Estas excedieron el compromiso de la oferta técnica añadiendo un día más de trabajo efectivo en el área de estudio en cada una de las campaña (Tabla 1). La programación original se vió afectada, entre otras razones por: días de puerto cerrado de manera intermitente, mal tiempo durante el desarrollo de las campañas, problemas mecánicos en la nave principal y en la nave de muestreo, entre otros.

Con el objetivo de monitorear individuos desovantes de salmónes chinook y coho asilvestrados se realizaron campañas de muestreo acústico y de carcazas en las épocas y lugares conocidos de desove de cada especie en ríos pertenecientes a la cuenca del Aysén. El monitoreo de individuos desovantes de salmón chinook se realizó en febrero a abril y septiembre a noviembre de 2010 en los ríos Huemules, Blanco, Ñirehuao y Mañihuales El monitoreo de individuos desovantes de salmón coho se realizó entre junio y agosto de los años 2009 y 2010 en los ríos Huemules, Blanco, Simpson, Claro y El Salto. (Figura 2)

El monitoreo de retornantes realizado con la cámara video-acústica DIDSON se realizó para salmón chinook en el Río Mañihuales entre el 10 y el 27 de noviembre de 2010 (45°

13,5' S, 72° 13,2' W), mientras que el monitoreo de retornantes de salmón coho se efectuó entre el 22 y 28 de abril de 2010 en el Río Aysén (45° 24,2' S, 72° 39,1' W) y entre el 04 y el 06 de mayo de 2010 en el Río Simpson (45° 34,4' S, 72° 4,8' W, Figura 2).

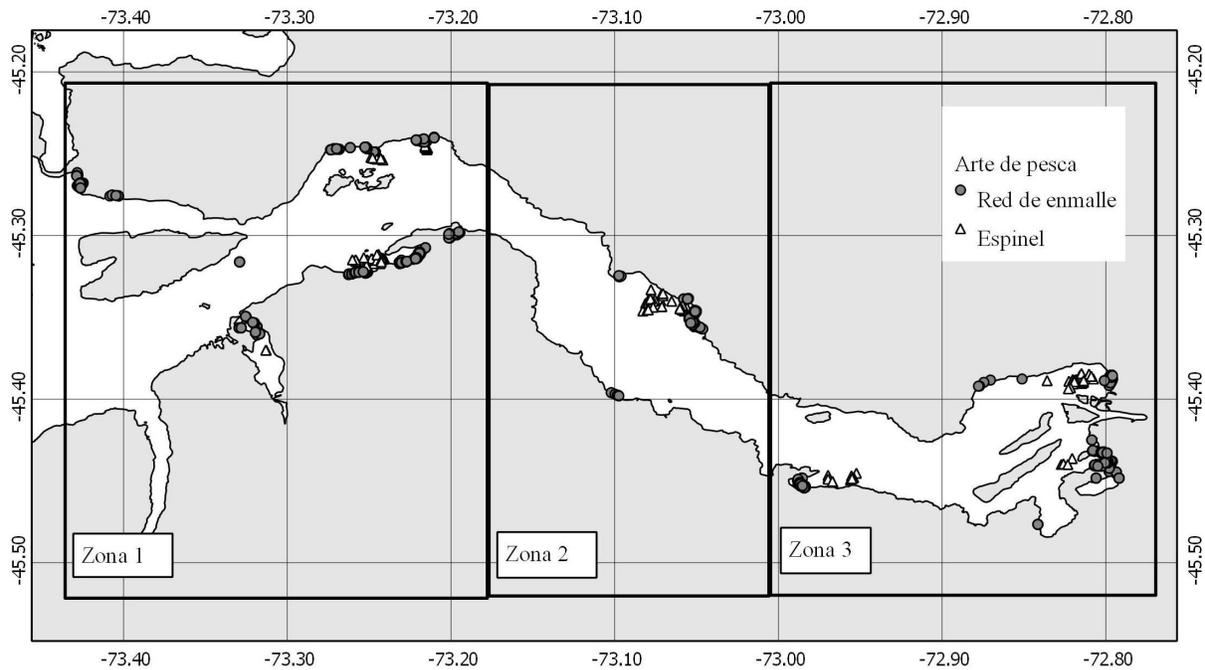


Figura 1: Ubicación de lances realizados con red de enmalle y espinel en cada zona en que se dividió el Fiordo Aysén con motivo del estudio (muchos de los lances se encuentran superpuestos; coordenadas en grados).

Tabla 1: Periodos en que se realizaron las campañas de pesca de investigación efectuadas en el Fiordo Aysén, años 2009 - 2010.

Campaña	Fecha
1	27 de mayo al 02 de junio de 2009
2	16 al 21 de julio de 2009
3	13 de noviembre al 04 de diciembre de 2009
4	20 al 31 de diciembre de 2009
5	25 al 30 de enero de 2010
6	07 al 14 de abril de 2010
7	04 al 27 de mayo de 2010
8	13 al 18 de julio de 2010
9	07 al 14 de septiembre de 2010
10	24 al 29 de septiembre de 2010

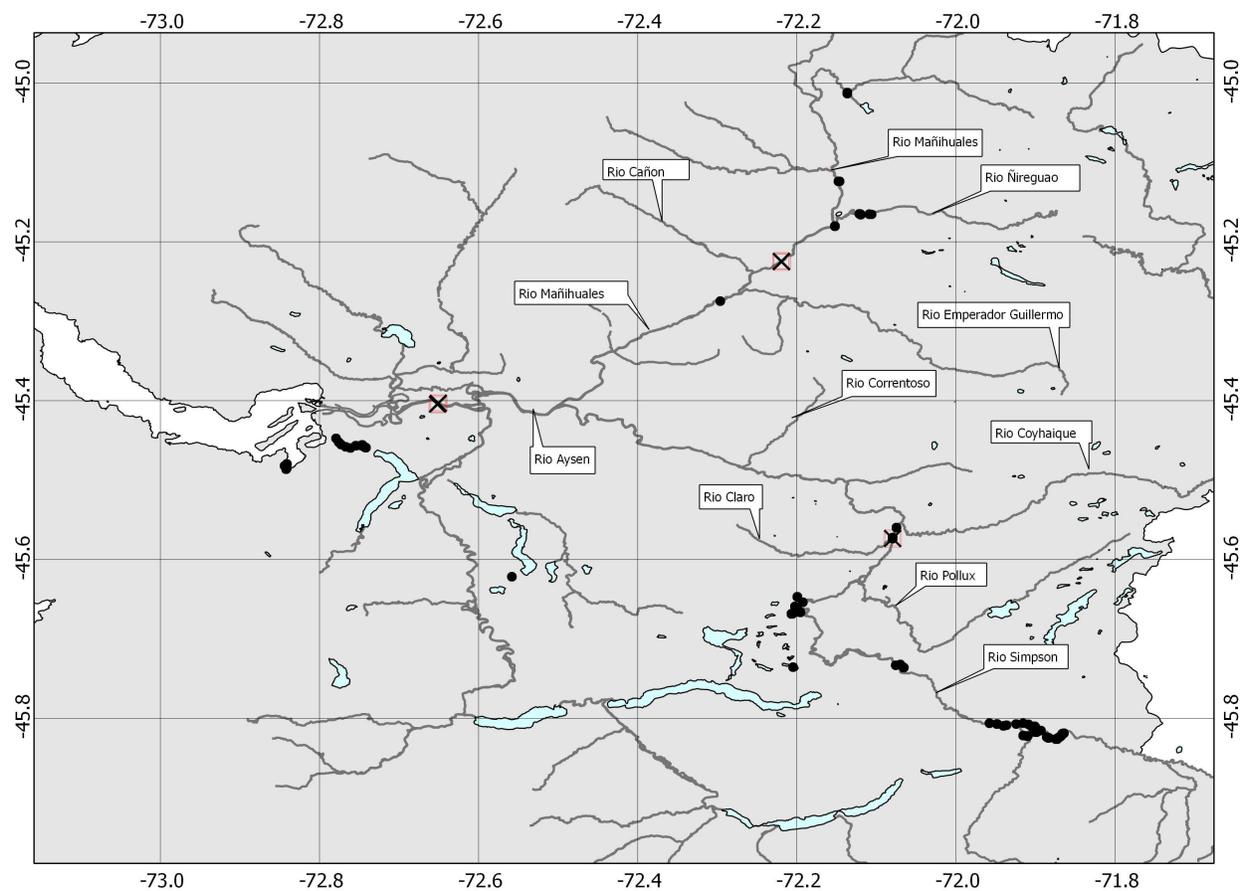


Figura 2: Cuenca del Río Aysén y sus principales tributarios. ●: muestreo de individuos desovantes y/o carcazas de salmones chinook y coho; ×: muestreo de retornantes con cámara video-acústica DIDSON.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS POR OBJETIVO

I. Fluctuación temporal de la estructura de edad, distribución de tallas, peso, sexo, IGS, índice de condición y composición de la dieta y relaciones tróficas de los salmonídeos de vida libre en el Fiordo Aysén (objetivo 1).

E. Niklitschek¹, E. Hernández¹, P. Rubilar¹, C. Oyarzún², P. Toledo¹, M. Araya³ & C. Barría¹

¹Universidad Austral de Chile, ²Universidad de Concepción, ³Universidad Arturo Prat.

1. INTRODUCCIÓN

La presencia de salmones de vida libre en el Fiordo Aysén plantea diversos problemas ambientales asociados, principalmente, a la perturbación de la trama trófica natural del ecosistema, tanto en su rol de predadores como de presas. Al afectar las tasas de crecimiento y/o mortalidad de las especies nativas presentes en el fiordo, estos efectos poseen consecuencias sociales y económicas de potencial importancia. La magnitud y duración de estos efectos dependerá del tamaño de las poblaciones de salmónidos escapados, de sus tiempos y edades de residencia en el fiordo, de sus tasas de mortalidad y de la existencia o no de fenómenos de asilvestramiento dentro de cada especie. El desarrollo del primer objetivo específico del proyecto apuntó a la caracterización de las poblaciones de salmónidos de vida libre presentes en el Fiordo Aysén en cuanto a la variabilidad estacional y espacial, de su abundancia e importancia relativa en la comunidad de especies ícticas presentes en el fiordo, y de aspectos biológico-pesqueros básicos como proporción sexual, IGS, índice de condición, y composición de edades, tallas y pesos. Producto de este mismo esfuerzo, se desarrolló también el estudio de la composición de la dieta de los salmónidos de vida libre, presentes en el fiordo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Muestreo de fauna íctica.

El muestreo de salmónidos y otras especies ícticas en el área de estudio, se efectuó siguiendo cuatro enfoques metodológicos principales:

- i. Campañas de pesca de investigación realizadas en el Fiordo Aysén,
- ii. Monitoreo de capturas incidentales realizadas por pescadores artesanales en el Fiordo Aysén,
- iii. Muestreo de ejemplares provenientes de centros de cultivo que operaban en el Fiordo Aysén durante el periodo de estudio
- iv. Muestreo de individuos desovantes y carcazas, realizado en la cuenca del Río Aysén.
- v. Muestreo de retornantes de salmones coho y chinook realizado con cámara hidroacústica DIDSON en tres sitios ubicados en la cuenca del Río Aysén.

2.1.1. Características de los aparejos de pesca utilizados.

Durante las campañas realizadas en el Fiordo Aysén se utilizó dos tipos de arte de pesca:

- redes agalleras de monofilamento de distintas tramas (1, 2, 3, 4, 6 y 6,5 pulgadas) para la captura de salmónidos de vida libre y fauna íctica presente
- set de cuatro a cinco espineles por noche, cuando las condiciones operacionales y climáticas así lo permitieron, para complementar la caracterización de la fauna íctica del Fiordo Aysén (potenciales presas, competidores y predadores de los salmónidos).

Las redes fueron confeccionadas por pescadores artesanales de la zona, cada red se formó a partir de un paño de 100 m de largo por 12 m de largo aproximadamente, con un promedio de 24 boyas por red. Las redes se distribuyeron en dos juegos de cuatro redes de distinta trama. Dentro del juego, cada red estaba separada por 2 m de distancia. Además se caló redes individuales (de las tramas ya mencionadas) cuyas alturas fluctuaron entre 2,5 y 15 m. Se utilizó distintas tramas con el fin de capturar un amplio espectro de tallas de salmónidos.

Los espineles fueron confeccionados con un total de 50 a 55 anzuelos (Mustad n° 7) distribuidos cada 1 m a partir de la superficie, el largo de la potala fue variable dependiendo de la profundidad del sector.

2.1.2. Campañas de pesca de investigación

Se realizó un total de 10 campañas de terreno, las que se efectuaron en las tres zonas en que se dividió el Fiordo Aysén con objetivo de este estudio (Figura 1). En cada zona se buscó sitios propicios para realizar tanto el calado de las redes de enmalle como de los espineles de acuerdo a la experiencia de pescadores artesanales que asesoraron la operación de las artes y a la disponibilidad de sitios aptos para este fin, los que resultaron ser incluso más limitados de lo ya previsto en la oferta técnica, debido a la combinación entre la topografía abrupta de la zona de estudio, las malas condiciones climáticas del área en general y la necesidad de buscar lugares resguardados ante repentinos cambios climáticos habituales en el área.

Las campañas se realizaron a bordo de la L/M Don Jorge (Armador Claudio Villegas) y de la L/M Elher I (Armador Alejandro Castillo) las que poseían las condiciones de maniobrabilidad, autonomía y habitabilidad adecuadas para realizar el muestreo, fijado y almacenamiento de las muestras, desplegar equipamiento oceanográfico y permitir la pernoctación del personal de terreno.

La pesca de investigación propiamente tal fue realizada por el B/M Trapananda (Armador: Universidad Austral de Chile) y el B/M Palena (Armador: Universidad Austral de Chile). El trabajo en terreno fue apoyado en las faenas de calado, virado y vigilancia de las redes de pesca por los señores Maximino Astudillo, Sixto Andrade, Antonio Villarroel, Mauricio Flores y Fernando Contreras, todos ellos pescadores artesanales de Puerto Chacabuco y Puerto Aysén.

Cada campaña comprendió un total de seis días efectivos de pesca (Tabla 2) durante los cuales se caló las redes y los espineles en distintos lugares de cada zona. En total se encontraron 15 sitios aptos para realizar el muestreo en el Fiordo Aysén (Tabla 3), en la zona 2 se encontró pocos lugares seguros, siendo una zona de alto riesgo frente a cambios repentinos del estado del tiempo.

Tabla 2: Campañas de pesca de investigación y monitoreo de pesca artesanal efectuados en el Fiordo Aysén años 2009 – 2010. Número de lances con redes de enmalle y espineles en cada campaña

Muestreo	Fecha	Lances con redes de enmalle	Lances con espineles
Campaña 1	27 de mayo al 02 de junio 2009	92	6
Campaña 2	16 al 21 de julio de 2009	238	9
Campaña 3	13 de noviembre al 04 de diciembre de 2009	200	9
Campaña 4	20 al 31 de diciembre de 2009	197	12
Campaña 5	25 al 30 de enero de 2010	158	13
Campaña 6	07 al 14 de abril de 2010	228	16
Campaña 7	04 al 27 de mayo de 2010	186	10
Campaña 8	13 al 18 de julio de 2010	188	12
Campaña 9	07 al 14 de septiembre de 2010	154	10
Campaña 10	24 al 29 de septiembre de 2010	170	13
Monitoreo	Marzo de 2009 a mayo de 2010	-	-

Tabla 3: Sitios muestreados de cada zona en que se dividió el Fiordo Aysén durante el periodo de estudio.

Zona 1	Zona 2	Zona 3
Caleta Vidal	Playas Blancas	Isla Tránsito
Estero Arnold	Punta Tortuga	Punta Camello
Estero Manco	Salida Río Cuervo	Ensenada Baja
Puerto Gato		Bahía Chacabuco
Puerto Pérez		Barrera Río Aysén
		Salida Río Yelcho

2.1.3. Monitoreo de capturas incidentales

Desde marzo de 2009 hasta mayo de 2010 se realizó monitoreo de las capturas incidentales de salmónidos en zonas cercanas a la cabeza del Fiordo, las que incluyeron principalmente los sectores de Ensenada Baja, Isla Tránsito y Bahía Acantilada (zona 3).

El monitoreo se basó en la captura incidental de salmónidos realizada por pescadores artesanales locales, utilizando redes agalleras similares a las empleadas en las campañas de pesca de investigación. Los salmónidos capturados por este medio fueron muestreados de manera equivalente al de las campañas de pesca de investigación (ver sección 2.1.6.), cuando fue posible obtener la información se registró los datos de posición de las redes, trama y horas de calado efectivo de las redes.

La intensidad de este muestreo se efectuó en la medida de lo posible ya que fue necesario contar con el consentimiento de los pescadores y el aviso oportuno para concurrir a muestrear la captura obtenida por ellos.

2.1.4. Muestreo de ejemplares provenientes de centros de cultivo

Se realizó un muestreo de peces provenientes de centros de cultivo que estaban operando en el Fiordo Aysén durante el periodo de estudio. Este muestreo se centró en la especie salmón coho que fue la especie seleccionada para el estudio genético. Se contó con la colaboración de diversas empresas, algunas de las cuales entregaron valioso apoyo e información relacionada con la historia de vida de los peces, características de su forma de cultivo, principales hitos en sus historias de vida, tipo de alimentación en cada periodo, además de mediciones oceanográficas históricas realizadas en el Fiordo Aysén. La mayoría de las muestras fueron colectadas de individuos desovados a los cuales se les realizó un muestreo biológico de acuerdo a lo indicado en el punto 2.1.6. del presente informe.

Los ejemplares cuya historia de vida fue entregada por las empresas colaboradoras, sirvieron para caracterizar las principales marcas presentes tanto en escamas como en otolitos, lo que permitió corroborar el carácter anual de los anillos hialinos en esta especie y contribuyó a confeccionar una guía para la interpretación de anillos y escamas de individuos de vida libre. El muestreo se realizó entre 03 de junio de 2009 y el 01 de julio de 2010, e incluyó muestras de tejido, otolitos y escamas además de peces enteros (Tabla 4).

Tabla 4: Número de ejemplares muestreados desde distintos centros que operaban en el Fiordo Aysén durante el periodo de estudio (SCO:salmón coho; SAT: salmón del Atlántico).

Centro	Especie	Ejemplares muestreados			Longitud horquilla	
		Machos	Hembras	Indeterminados	Mínima	Máxima
CENTRO 1	SCO	50	50	0	54,2	75,4
CENTRO 2	SCO	53	53	0	52,0	84,5
CENTRO 3	SCO	45	27	0	43,0	66,0
CENTRO 4	SCO	58	59	0	30,1	60,6
CENTRO 5	SAT	3	23	24	30,3	55,7
CENTRO 6	SCO	20	29	30	12,0	44,3

2.1.5. Muestreo de individuos desovantes y carcazas

Con el fin de actualizar la información relacionada con sitios y periodos de desove de salmones chinook y coho, se contrastó información existente proveniente de estudios realizados en la Región de Aysén con aquella obtenida a partir de entrevistas realizadas a guías de pesca, pescadores deportivos, guardaparques, pobladores y expertos en el tema; obteniendo información primaria (avistamiento en terreno) y secundaria (a partir de observaciones del entrevistado) sobre la presencia de salmones chinook y coho en distintos tributarios de la cuenca del Río Aysén (Figura 2).

Con la información antes indicada, se planificó salidas a terreno en busca de individuos desovantes y/o carcazas de salmón coho y salmón chinook. En cada salida se anotó lugar visitado georreferenciado, día, hora y si hubo avistamiento de salmones. Cuando se obtuvo muestras (casi exclusivamente de salmón chinook), se anotaron los datos biológicos y cuando fue posible se extrajo los otolitos de los ejemplares. Se realizó también pesca con red de enmalle en los ríos Blanco, Huemules, Simpson y Mañihuales y pesca eléctrica en los ríos Simpson y Blanco, con escasos resultados de captura.

Tabla 5: Resumen de estudios realizados en la Región de Aysén y de información recogida a partir de entrevistas relacionada con salmones chinook y coho (se indican observaciones mencionadas para la Región de Aysén. ER: época reproductiva).

Especie	Area de estudio	Reporte	Fuente	Observaciones -comentarios
Salmón chinook	Cuenca de los ríos Cisnes, Aysén y Baker	Presencia ER: enero-marzo	(Niklitschek & Aedo 2002)	
	Cuenca del Río Cisnes: ríos Picaflor y Cobarde	Presencia ER: marzo - abril	(Gallardo 2007)	
	Desde 39° a 53° S: ríos Aysén y Baker	Presencia ER: marzo a mayo	(Correa & Gross 2008)	
	Cuenca del Río Baker: Río Jaramillo	Presencia ER: marzo - abril	(Cayún 2010)	
	Río Huemules (sector El Blanco y Cerro Galera)	ER: enero - mayo	Primaria y secundaria	“suben todos los años en gran cantidad”
	Río Mañihuales	ER: marzo - abril	Primaria y secundaria	“la pesca frente al pueblo se da entre octubre y enero. En febrero todavía hay pero pican menos”.
	Río Ñireguao	ER: marzo - abril	Primaria y secundaria	“ahí se pesca poco, pero en otoño se ven peces muertos por todos lados”
Salmón coho	Canal Moraleda - Fiordo Aysén: Ensenada Baja	Presencia ER: marzo a mayo	(Zama & Cárdenas 1984)	
	Regiones de Los Lagos y Aysén: Puerto Chacabuco y Puerto Cisnes	Presencia	(Soto et al. 1997)	Mayor porcentaje de maduros en marzo
	Cuenca de los ríos Cisnes, Aysén y Baker: Arroyo Cea, Río Simpson	Presencia. ER: mayo-junio	(Niklitschek & Aedo 2002)	
	Ríos Simpson, Ñirehuao y Baker	Presencia en Río Simpson	(Lopez 2007)	
	Río Simpson (sector Piedra del Indio, El Blanco, Piscicultura Dr.	ER: otoño – invierno	Primaria, secundaria y terciaria	“este año no se han visto”, “la gente antes los pescaba de noche y en cantidades”

Shiraishi)			
Río Caracoles (km 26)	ER: marzo - mayo	Secundaria	“hace tres años no se ven”
Desembocadura Laguna Cea, sector Seis Lagunas, Villa Lago Atravesado, Desagüe Lago Portales, Lago Elizalde, Lago Paloma	ER: abril - junio	Primaria y secundaria	“para desovar esperan la crecida del río” “cada vez se ven menos”
Río Aysén (El Salto, Parque Aiken del Sur)	ER: marzo - mayo	Primaria y secundaria	“hace tres años dejaron de subir cohos en abundancia”
Río Huemules (sector El Blanco, Posada la Rosa)		Primaria y secundaria	“no se han visto últimamente”

2.1.6. Procedimiento de muestreo en campañas en el Fiordo Aysén

En cada campaña realizada en el Fiordo se caló al menos 10 redes las que se dejaron en el mismo sitio por un periodo mínimo de 20 horas y máximo de 24 horas, aunque fueron revisadas/viradas cada cuatro a cinco horas con el fin de preservar el posible contenido estomacal de los ejemplares salmónidos capturados. Esta actividad se realizó en 5 sitios distintos del Fiordo en cada campaña (24 horas en cada sitio aproximadamente).

En las actividad de calado y virado de las redes participaron dos pescadores artesanales y al menos una persona perteneciente al Laboratorio de Biología Marina Cuantitativa con el fin de realizar el registro de captura y posición de los lances.

La captura total obtenida a partir de los muestreos de las campañas en el Fiordo Aysén, fue seguida a nivel de lance y su información fue registrada en una bitácora de pesca que detalló las siguientes variables de interés: fecha, hora, posición geográfica, profundidad de la red, tamaño de malla, hora de inicio y término de cada lance, entre otras.

La totalidad de la ictiofauna capturada fue separada manualmente en grupos taxonómicos e identificados con apoyo de claves de campo utilizadas en trabajos anteriores por el equipo de trabajo (Niklitschek & Aedo 2002) y material de trabajos anteriores realizados en la zona (Zama & Cárdenas 1984)

El protocolo de muestreo biológico incluyó mediciones de peso (total) y talla (longitud total) para toda la captura, sin embargo, cuando la cantidad capturada superaba las 15 unidades por especie se realizó un muestreo aleatorio de este número de ejemplares para medirlos y pesarlos contabilizando el total de la captura por especie.

A todos los salmónidos capturados se les realizó mediciones de talla que incluyeron longitud horquilla y total (con precisión de mm), para complementar la información disponible, a todos los salmónidos se les midió además longitud estándar, longitud hocico-opérculo, longitud hocico-ano, longitud hocico-ojo y altura máxima (en mm). Se midió y registró además el peso total (precisión ~ 1, 5, 10 ó 50 g) y gonadal (precisión ~1 g), sexo y estado macroscópico de madurez gonadal equivalente a la empleada por Niklitschek y Aedo (2002, Tabla 6).

A cada salmónido capturado se le asignó un código único para asignarlo a las siguientes muestras biológicas tomadas: ambos otolitos sagitales, escamas, un trozo de tejido muscular para análisis genético y otro para análisis de isótopos estables; los estómagos con contenido fueron seccionados y fijados en formaldehído (4% V/V) para análisis de dieta; se almacenaron también ejemplares completos de distintas tallas para análisis de contenido energético.

Se seleccionó ejemplares de fauna acompañante de distintas tallas para realizar análisis calorimétrico, se tomaron muestras de músculo para análisis isotópico, estómagos para análisis de contenido y muestras de otolitos para colección de todas las especies presentes.

Tabla 6: Estados de madurez gonadal de machos y hembras de salmónidos, de acuerdo a escala macroscópica internacional. Adaptada por Niklitschek & Aedo (2002).

Estado	Denominación	Característica
1	Virginal	Gónadas delgadas, color pálido, no se diferencia el testículo de los ovarios. Peces muy jóvenes.
2	Inmaduro	Ovarios y testículos delgados, se alcanza a ver el contorno de las ovas a través de la membrana ovárica.
3	En maduración	Ovarios más gruesos, ovas de color anaranjado, de diferentes tamaños; los ovarios ocupan más o menos la mitad de la cavidad visceral. Testículos también más grandes y de color blanquecino.
4	Pre-maduros	Los ovarios ocupan más de la mitad de la cavidad visceral, los testículos son de color lechoso y los ovarios de color naranja más acentuado, hay un aumento marcado en el volumen de las gónadas.
5	Maduros	Los ovarios y testículos ocupan casi toda la cavidad visceral. Ovocitos translúcidos . los peces están próximos al desove.
6	Desovante	Estadio en que los ovarios y los testículos expulsan con facilidad productos sexuales. Las ovas salen sin sangre e independiente una de otra, la madurez de la ova y espermatozoide es óptima para realizar la fecundación.
7	En regresión	Estadio en que las gónadas se encuentran ya vacías y flácidas.

Para lograr diferenciar salmónes silvestres de escapados se utilizó principalmente criterios morfológicos, por otra parte cabe mencionar que las especies salmón chinook y trucha café no estaban siendo cultivadas en el Fiordo Aysén durante el periodo de estudio (ni en un periodo anterior) por lo que se presumió que todos los ejemplares capturados de estas especies son de vida libre. Para los ejemplares de salmónidos de cultivo (salmón coho, trucha arcoiris y salmón del atlántico,) se utilizó criterios morfológicos basados en el deterioro dado por las condiciones de cultivo, estos efectos aparecen en las aletas pectoral, dorsal y anal, en el opérculo y la nariz entre otras, aspectos descritos en la literatura (Soto et al. 1997; Cadrin et al. 2005).

2.2. Composición de tallas

La composición de tallas para una especie de salmónido cualesquiera, en un estrato temporal o espacial de interés, fue estimada mediante la suma ponderada de las estructuras de tallas de la captura de las redes (DFT_j) por la selectividad relativa (S) de la red j , es decir:

$$DFT = \sum_{j=1}^n DFT_j \cdot S_j$$

La selectividad (S) de las redes de enmalle usadas en el muestreo fue estimada siguiendo la metodología propuesta por Millar y Holst (1997), quienes asumieron que el número de peces que se encuentran con la red j es una variable aleatoria que sigue una distribución de Poisson:

$$Y_{ij} \sim P_o(p_j \lambda_L)$$

donde el número esperado de peces que se encuentran con la red j es producto de la abundancia (λ_L) de la clase de tamaño L y la intensidad de pesca relativa (p_j) de la red j . La intensidad de pesca es una medida combinada del esfuerzo de pesca y el poder de pesca de la red.

Si la probabilidad de retención de un pez de tamaño L por la red j es $r_j(L)$, entonces el número de peces de talla L capturado por la red j , $N_{L,j}$, está dado por el producto entre la probabilidad de encuentro y la probabilidad de retención:

$$N_{L,j} \sim P_o(p_j \lambda_L r_j(L))$$

En muchos casos el valor esperado de la captura a la talla L en la red j , $v_{L,j} \sim p_j \lambda_L r_j(L)$, puede ser expresado en una forma Log lineal de manera que:

$$\log(v_{L,j}) = \log(p_j) + \log(\lambda_L) + \log(r_j(L))$$

Si además las curvas de selección son asumidas normales, donde

$$\beta_0 = \frac{k_1^2}{2k_2} \beta_1 = \frac{k_1}{k_2} \beta_2 = \frac{1}{2k_2} x_{L,j} = \frac{L}{m_j}$$

entonces se puede obtener la curva de selección para la red j .

2.3. Relación longitud peso y factor de condición

La relación longitud-peso fue modelada asumiendo una relación alométrica de crecimiento, definida por:

$$W = a \cdot L^b$$

donde,

W : peso del individuo (g)

L : longitud horquilla del individuo (cm)

cuyos parámetros a y b y sus correspondientes errores estándar fueron estimados mediante regresión lineal mixta (Littel et al. 1996) sobre las variables transformadas a escala

logarítmica (\log_{10}), esta aproximación permite considerar adecuadamente las covarianzas existentes entre peces capturados en un mismo lance y/o en un mismo día, siguiendo la forma:

$$\log_{10}(W) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10} L$$

Se utilizó el factor de condición de Fulton (Ricker 1975), el cual ha sido considerado como un método estándar para medir la condición de un pez (Carlander 1969). En el caso de una alometría muy manifiesta se usó en factor de condición de Le Cren (1951).

$$K_i = \frac{W_i}{L_i^b}$$

Entonces, si b es igual a 3 se usó el índice de condición de Fulton, y si b distinto de 3 se usó el índice de condición de Le Cren.

2.4. Composición y diversidad específica

Para estimar la diversidad debe considerarse que:

- Es raro que se estime la diversidad de toda la comunidad, por lo general, se mide la diversidad en un fragmento de la misma que se denomina taxocenosis (e.g., diversidad de aves, de peces, de árboles, etc.).
- los individuos asignados a una clase (especie) son considerados idénticos. Es decir, no se reconoce la variabilidad intraespecífica.

Para interpretar la diversidad debe tenerse en cuenta que se está trabajando con una variable nominal. Las categorías son las especies y por lo tanto el único valor de tendencia central que puede obtenerse es la moda (categoría con mayor frecuencia, en este caso la especie más abundante), siendo imposible calcular un promedio o una mediana.

Numerosos índices han sido propuestos para caracterizar la riqueza de especies y la equidad, denominados índices de riqueza e índices de equidad, respectivamente. Los índices que combinan tanto la riqueza de especies como la equidad en un solo valor se denominan índices de diversidad.

2.4.1. Índice de Riqueza Específica

Para caracterizar la riqueza específica de los peces presentes en el Fiordo Aysén se usó el índice de Margalef (1958) el cual relaciona la riqueza de especies (S) con el número total de individuos observados o (n).

$$R = \frac{S-1}{\ln(n)}$$

2.4.2. Índice de diversidad de Shannon

En algunos casos un valor dado de un índice de diversidad puede provenir de distintas combinaciones de riqueza específica y equidad. Es decir, el mismo índice de diversidad

puede obtenerse de una comunidad con baja riqueza y alta equidad como de una comunidad con alta riqueza y baja equidad. Esto significa que el valor del índice aislado no permite conocer la importancia relativa de sus componentes (riqueza y equidad).

Para caracterizar la comunidad de peces del Fiordo Aysén se utilizó el índice de Shannon-Wiener (Shannon & Weaver 1949), cuya expresión es:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \cdot \log_2(p_i)$$

con

$$p_i = \frac{n_i}{N}$$

donde:

n_i = número de individuos de la especie i ,

N = número total de individuos para todas las S especies en la comunidad.

Este índice se basa en la teoría de la información (mide el contenido de información y en un contexto ecológico, como índice de diversidad, mide el contenido de información por individuo en muestras obtenidas al azar provenientes de una comunidad ‘extensa’ de la que se conoce el número total de especies S . También puede considerarse a la diversidad como una medida de la incertidumbre para predecir a qué especie pertenecerá un individuo elegido al azar de una muestra de S especies y N individuos. Por lo tanto, $H' = 0$ cuando la muestra contenga solo una especie, y, H' será máxima cuando todas las especies S estén representadas por el mismo número de individuos n_i , es decir, que la comunidad tenga una distribución de abundancias perfectamente equitativa (H'_{max} , ver sección siguiente). Este índice subestima la diversidad específica si la muestra es pequeña.

2.5. Proporción sexual.

La proporción sexual de cada especie salmonídea presente en el área y periodo de estudio fue estimada para cada estrato a través de un modelo lineal generalizado de efectos mixtos (GLMM). Para el presente análisis se consideró un modelo de tipo logístico, definido como,

$$\log\left(Y_{ij} = \frac{p_{ij}}{1 - p_{ij}}\right) = x_{ij} \beta + z_{ij} b_i, Y_{ij} \sim_{ind} \text{Bin}(n_{ij}, p_{ij})$$

$$b_i \sim_{ind} N(0, s_a^2)$$

donde:

Y_{ij} : es la proporción de sexos,

x_{ij} : factor de efectos fijos “AÑOMES”

y b_i : Factor de efectos aleatorios “LANCE”.

El modelo anteriormente indicado fue ajustado en R¹, mediante la función *glmmPQL* inserta en la librería MASS.

2.6. Captura por unidad de esfuerzo

El uso de la CPUE como índice de abundancia está basado en la relación lineal entre la captura, la abundancia y el esfuerzo, es decir:

$$C_t = qE_t N_t$$

donde

C_t : captura en el tiempo t ,

E_t : esfuerzo de pesca en t ,

N_t : abundancia al tiempo t y

q : porción del stock capturado por un unidad de esfuerzo (llamado coeficiente de capturabilidad o simplemente capturabilidad).

La CPUE es proporcional a la abundancia si q es constante a través del tiempo, es decir:

$$\frac{C_t}{E_t} = qN_t$$

La CPUE es índice de abundancia más usado, debido a su facilidad y bajo costo de obtención. Este índice de CPUE es mejorado a través de la estandarización que busca eliminar el impacto de factores ajenos a la abundancia, como por ejemplo aquellos relacionados a cambios en la eficiencia asociados a tecnología de pesca. Para el análisis de la variación mensual de la abundancia de cada una de las especies de salmónidos en el Fiordo Aysén, se consideró que la CPUE estandarizada es un índice válido.

La estandarización de la CPUE se realizó mediante la metodología de los modelos lineales generalizados (GLM), en el software estadístico R. Las variables explicativas de la CPUE consideradas fueron las siguientes: mes (MES), trama de la red (TRAMA), zonas (ZONAS), entre otras.

La modelación consideró una función de densidad *Gamma* con función de enlace *log*, debido a que esta pdf es más flexible para representar asimetrías de la distribución empírica del logaritmo de la CPUE.

$$\log(CPUE)_{ijk} = \log(m) + \log(\alpha_i) + \log(\beta_j) + \log(d_k) + K + \log(e_{ijk})$$

donde:

Y_{ijk} : CPUE medida en (número de peces capturados /hr. de pesca).

α_i : factor mes.

β_j : factor trama de la red, con los niveles: 1", 1.75", 2", 3", 4", 5" y 6"

δ_k : factor zona, con tres niveles: ZONA 1, ZONA 2 y ZONA 3 .

... :Otras variables explicativas

¹ <http://www.R-project.org>

El poder explicatorio del modelo fue descrito por la reducción de la devianza residual respecto de la devianza residual nula definida por el modelo simple del intercepto.

2.7. Análisis de la estructura de edad

Utilizando procedimientos estandarizados (Secor et al. 1995), se extrajeron, rotularon, limpiaron y almacenaron los otolitos sagitta de salmónidos provenientes del Fiordo y Cuenca del Río Aysén. De los 1003 ejemplares muestreados durante el periodo de estudio, 696 correspondieron a individuos de vida libre provenientes del Fiordo Aysén.

Al realizar una evaluación de los otolitos almacenados, se observó que un 16,4% de ellos se perdió o inutilizó durante la manipulación (extracción, sonicación, pesaje, fijado, lijado o corte de las muestras), un 40,1% se encontró cristalizado o con bordes cristalizados a la manera de vaterita en reemplazo de la usual aragonita y un 43,5% se encontró en condiciones de ser usado para su lectura, es decir, 303 pares de otolitos. La formación de vaterita hace inviable la lectura del otolito y es un fenómeno que, siendo común en todas las especies, tiende a ser mayor en salmónidos, más aún cuando se trata de ejemplares procedentes de cultivo (Sweeting et al. 2004; Barnett-Johnson et al. 2007).

Los otolitos viables para la lectura fueron preparados para un análisis de macro incrementos, siguiendo la metodología general descrita por Secor et al. (1995). Una submuestra de otolitos fue, además preparada para análisis de micro-incrementos, como un estudio anexo al presente informe, que será publicado posteriormente como parte de una tesis de grado. En general, se preparó el otolito izquierdo de cada ejemplar, con la excepción de aquellos casos en que se evidenció problemas de calidad (astillado, quebrado, cristalizado) y se utilizó el otolito derecho. La elección final de otolitos a realizar se realizó a través de un muestreo estratificado, definiendo una meta de 9 otolitos por estrato de talla de 5 cm.

Una vez pesados en una balanza analítica (precisión 0,0001 g) se procedió a embeber los otolitos en resina epóxica traslúcida para inclusión en frío (Epoheat, epoxy resin y Epoheat epoxy hardener, de Buehler en proporción en peso de 3:1) y, una vez solidificada esta última, a realizar un corte transversal de cada otolito a la altura estimada del área primordial utilizando una sierra petrológica de corte lento (Secor et al. 1992). Para el análisis de macro-incrementos se procedió a pulir una de las dos mitades (seleccionada al azar) utilizando papel abrasivo húmedo (carburo de silicio) finalizando el pulido con una solución de óxido de aluminio de 0,25 μm . Las secciones pulidas fueron observadas a la lupa utilizando un aumento variable y obteniendo un respaldo fotográfico de la muestra.

Cada otolito fue leído por un mínimo de dos lectores, entrenados por el profesor Miguel Araya (UNAP). Dentro de cada otolito se buscó discriminar los siguientes anillos interpretables como marcas de eventos biológicamente relevantes en la vida del individuo analizado: borde del área nuclear (core), inviernos (annuli), esmoltificación, escape (si corresponde). Para ello, se utilizó una pauta de criterios (Tabla 7, Figura 3) preparada a partir de la revisión de literatura, asesoría de expertos de Norte y Sudamérica (Jessica Miller, Miguel Pascual, Rachel Barnett-Johnson) y la revisión de otolitos y escamas de peces de cultivo. Se asumió la existencia de un patrón anual de formación de marcas

hialinas principales (“annuli”) durante el período invernal, sustentado en las siguientes piezas de información:

- Numerosos estudios de validación conducidos en distintas especies de salmónidos en el hemisferio norte (Murray 1994; Wells et al. 2003; Fisher & Pearcy 2005; Maceina et al. 2007; McNicol & MacLellan 2010).
- El patrón de formación de anillos observado en otolitos y escamas de salmón coho de edad conocida, cultivados en el Fiordo Aysén
- El período de formación de marcas hialinas observado en los individuos de vida libre capturados en el fiordo, que incluyó salmón coho, salmón chinook, trucha café y trucha arcoiris.

Tabla 7: Criterios de identificación empleados para identificar marcas o anillos ininterpretables como eventos biológicamente relevantes en otolitos y escamas de salmónidos de vida libre capturados en el Fiordo Aysén

Marca o anillo	Criterios de identificación	
	Otolito	Escama
Borde del core	Discontinuidad en el patrón de la matriz calcárea en el otolito	No corresponde.
Invierno	Anillo hialino relativamente grueso que separa dos zonas opacas del otolito. En caso de haber más de un anillo invernal, estos tienden a espaciarse de manera regular.	Punto de inflexión que separa un patrón decreciente de distancias inter-circuli de un patrón posterior de distancias crecientes
Esmoltificación	Discontinuidad que marca un cambio sostenido en el patrón de densidad del otolito.	Discontinuidad en el patrón de formación de la escama, que marca un aumento abrupto (>50%) de las distancias inter-circuli.
Escape	Anillo hialino delgado, que separa dos zonas opacas del otolito. Rompe el patrón de espaciamiento regular de los anillos invernales.	Discontinuidad en el patrón de formación de la escama que marca una reducción temporal o permanente en el patrón de formación inter-circuli.

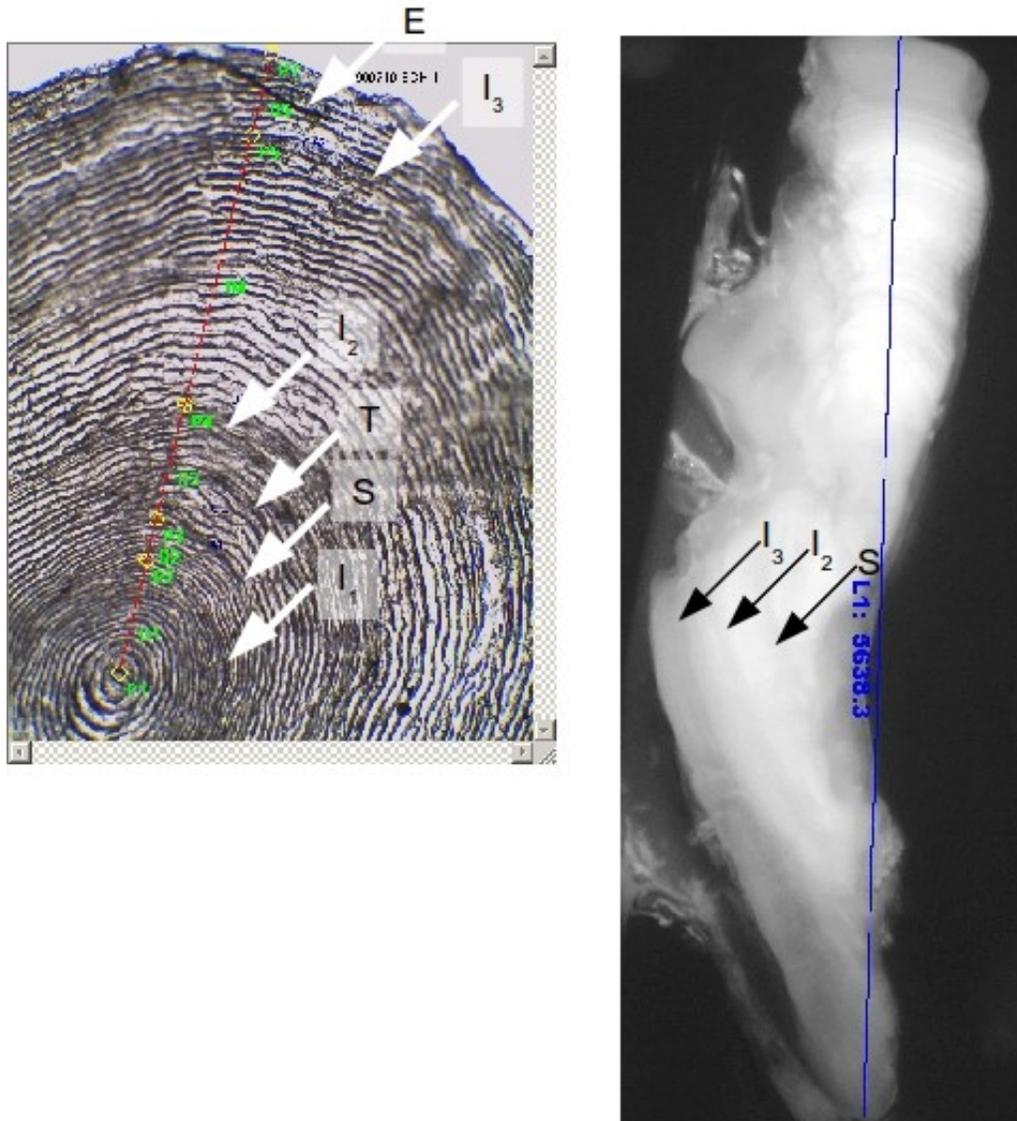


Figura 3: Ejemplo de interpretación de anillos anuales y anillos asociados a eventos relevantes de la historia de vida de un salmón coho de vida libre capturado en el Fiordo Aysén. I₁, I₂ y I₃: inviernos, S: esmoltificación, T: traslado entre centros de cultivo, E: escape. Ver criterios de interpretación en Tabla 7.

Dada la gran variabilidad observada en la determinación del número de *annuli* en otolitos entre lectores (CV=32,4%), se optó por evaluar la lectura de escamas y la metodología de análisis integrado, empleada por el laboratorio de la Dra. Jessica Miller, colaboradora del proyecto, consistente en la asignación de la edad de cada muestra considerando de manera simultánea la información obtenida de las lecturas de escamas y otolitos. En general, las escamas permiten identificar con mayor facilidad cambios de hábitat asociados, por ejemplo, a la esmoltificación y el escape desde centros de cultivo. Poseen, sin embargo, algunos inconvenientes, como re-aborción del borde o regeneración, que pueden llevar a la sub-estimación de la edad, especialmente en individuos adultos. Los otolitos, por su parte, poseen la ventaja de la estabilidad de los anillos hialinos, pero las desventajas de un

trabajo de preparación previa mucho mas laborioso y la dificultad de discriminar entre anillos anuales y anillos formados por cambios de hábitat u otras fuentes de estrés, existiendo una tendencia a sobre-estimar la edad asignada.

El protocolo de análisis integrado puede ser descrito por los siguientes pasos fundamentales:

- i.** Se identifican y clasifican los anillos presentes en las escamas del pez analizado, siguiendo los criterios de la Tabla 7 y verificando la consistencia de las mismas en un mínimo de tres escamas por pez.
- ii.** Se registra el número preliminar de inviernos vividos por el individuo analizado, obtenido en base a la lectura de escamas.
- iii.** Se cuenta y registra el número de anillos hialinos principales (“annuli”, Tabla 7) observados en la sección transversal del otolito sagitta correspondiente al mismo individuo (por defecto, en el otolito izquierdo).
- iv.** En caso de concordancia, se acepta y registra la lectura del número de annuli obtenida por ambos métodos.
- v.** En caso de discrepancia, se despliega las imágenes digitales de una escama seleccionada y de la sección del otolito correspondiente, en paralelo. Se revisa las lecturas anteriores, siguiendo el siguiente procedimiento:
 - v.i.** Se contrasta la posición relativa de anillos de origen sub-anual (esmultificación o escape) identificados en escamas, con la de anillos hialinos de menor intensidad y/o espaciados de manera irregular en el otolito (Tabla 7).
 - v.ii.** Se verifica la posición relativa al margen del último annulus en el otolito y se evalúa, cualitativamente, la posible reabsorción del annulus equivalente en la escama. Este paso puede ser complementado gráficamente mediante la comparación de la relación entre el radio antero-posterior de la escama observada y la longitud horquilla del pez estudiado y del conjunto de peces presentes en la muestra..
- vi.** Si se alcanza concordancia al final del paso 5, se registra la lectura correspondiente. En caso contrario, se descarta la lectura.
- vii.** Como verificación adicional se grafican los diámetros dorso-ventrales de los otolitos y los radios antero-posteriores de las escamas leídas sobre la longitud horquilla de los individuos muestreados, eliminando aquellas lecturas cuyas escamas u otolitos difieren sustancialmente de la línea de regresión.

Para fines de la lectura integrada, se procedió a limpiar las escamas disponibles, colectadas desde la zona lateral (Figura 4) de un total de 132 salmónidos capturados en el área de estudio. Un mínimo de 10 escamas por pez fue limpiada con ayuda de ultrasonido, agua oxigenada y la remoción manual de impurezas bajo la lupa. Cada grupo fue, luego, montado sobre un portaobjeto y fotografiada bajo el microscopio estereoscópico (Olympus SZ-51) con una magnificación estandarizada de 45X utilizando luz incidente halógena.

La precisión entre lectores dentro del Laboratorio de Biología Marina Cuantitativa (BIMAC) de la UACH y entre este laboratorio y el de la Dra. Miller fue calculada y comparada para las estimaciones efectuadas a partir de las lecturas de (i) otolitos, (ii) escamas y (iii) lectura integrada otolitos y escamas. Los números de lectores dentro del BIMAC, para los tres métodos alcanzaron a 5, 3 y 2 lectores, respectivamente. Los resultados aceptados como válidos (concordancia en las lecturas entre dos o más lectores) fueron comparados con los obtenidos por el Laboratorio de la Dra. Miller, donde participaron dos lectores. El análisis de precisión se realizó considerando los valores promedio del coeficiente de variación (CV_j) y del índice de precisión (D_j), calculados para cada individuo siguiendo a Chang (1982),

$$CV_j = 100 \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^R \frac{(X_{ij} - X_j)^2}{R-1}}}{X_j} \quad D_j = \frac{CV_j}{\sqrt{R}}$$

donde,

R : número de lectores por otolito

X_{ij} : número de annuli contados por cada lector i para cada otolito j

X_j : número promedio de annuli contados para cada otolito j

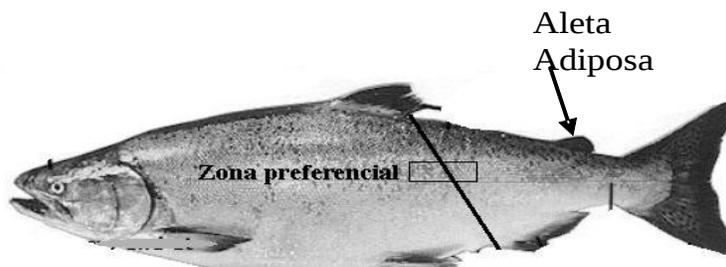


Figura 4: Zona de extracción de escamas para estimación de edad en salmónidos capturados en el Fiordo Aysén (2009-2010).

Para la construcción de matrices talla-edad y la estimación de los parámetros de las curvas de crecimiento individual por especie se utilizó las determinaciones del número de annuli obtenidas con el método integrado, que alcanzó la mayor precisión de las tres técnicas aplicadas. Cuando esto no fue posible se utilizó las determinaciones basadas en lectura de escamas y de otolitos, siguiendo el orden obtenido en el análisis de precisión (ver resultados).

Para fines de estimación de la edad de los peces muestreados, requeridas para el ajuste de los modelos bioenergético y obtener ajustes más realistas de las curvas de crecimiento, se asumió fechas arbitrarias de nacimiento, las que fueron distintas para cada especie y correspondieron a aquellas estimadas a partir de las fechas de desove reportadas para cada una de ellas en la Región de Aysén (Niklitschek & Aedo 2002) y de sus respectivos

períodos de de desarrollo embrionario (Billard & Jensen 1996), asumiendo una temperatura media de 5°C para las especies asilvestradas y de 7,5°C para las especies cultivadas (Tabla 8).

Tabla 8: Fechas asumidas de nacimiento de las especies estudiadas y supuestos empleados para el cálculo de las mismas. HS: hemisferio sur (ovas nacionales), HN: hemisferio norte (ovas importadas).

Especie	Fecha aproximada de desove (Niklitschek & Aedo 2002)	Temperatura media asumida (°C)	Tiempo medio de incubación (días) (Billard & Jensen 1996)	Fecha de nacimiento asumida
<i>Oncorhyncus tshawytscha</i>	Abril, 1	5	102	Julio, 12
<i>Salmo trutta</i>	Junio, 1	5	90	Agosto, 30
<i>Oncorhyncus kisutch</i>	Mayo, 15	7,5	63	Agosto,13
<i>Oncorhyncus mykiss</i> (HS)	Octubre, 1	7,5	56	Diciembre, 30
<i>Oncorhyncus mykiss</i> (HN)	Mayo, 1	7,5	56	Julio, 30

Para la modelación de la curva de crecimiento individual, se ajustó, mediante regresión no lineal, los siguientes modelos básicos

- von Bertalanffy

$$L_t = L_\infty (1 - e^{-K(t-t_0)})$$

donde

L_∞ : longitud asintótica
 K coeficiente de crecimiento
 t_0 parámetro de posición

- Gompertz

$$L_t = L_\infty e^{-e^{-gt(t-t_0)}}$$

donde

L_∞ : longitud asintótica
 gt tasa instantánea de crecimiento cuando $t = t_0$
 t_0 : punto de inflexión

- Schnute

Cuya ecuación más general (modelo 1; $a \neq 0$ y $b \neq 0$) consiste de cuatro parámetros (a, b, L_i, L_j) y es definida por la expresión:

$$L_t = \left[L_i^b + (L_j^b - L_i^b) \cdot \frac{1 - e^{-a(t-t_i)}}{1 - e^{-a(t_j-t_i)}} \right]^{\frac{1}{b}}$$

donde

L_t : tamaño promedio del pez a la edad t ,

a, b : constantes

L_i, L_j : tamaños predichos a las edades arbitrarias i y j , respectivamente. Estas edades corresponden, generalmente, a las edades mínimas y máximas observadas en la muestra.

La comparación y selección de modelos alternativos fue realizada con base en el criterio de información de Akaike (Burnham & Anderson 2002), cuya expresión es:

$$AIC = n \ln(\hat{\sigma}^2) + 2p$$

donde

n : tamaño de la muestra

p : el número de parámetros a estimar

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{\sum \hat{\varepsilon}_i^2}{n}$$

$\hat{\varepsilon}_i^2$: residuos estimados

2.8. Análisis de composición de edades de la captura

La construcción de las claves talla-edad por especie se basó en el supuesto de distribución normal de tallas dentro de edades y siguió el procedimiento de estimación por máxima verosimilitud de la composición de edades de la muestra a partir de una clave edad-talla pre-existente y de la estructura de tallas de la muestra, descrito por Kimura & Chikuni (1987). Para la estimación del vector de parámetros (proporciones) se utilizó la parametrización logit propuesta por Kimura & Dorn (2006). De este modo, la verosimilitud a maximizar corresponde a,

$$L = const. + \sum_{i=1}^n f_i \log(l_i)$$

donde,

$$l_i = \sum_j p_j q_{ij}$$

$$p_j = \frac{e^{x_j}}{1 + \sum_k x_k} \quad j, k = 1, \dots, a-1$$

$$q_{ij} = \frac{n_{ij}}{n_j}$$

n_{ij} : número de individuos de edad i con longitud j

n_j : número total de individuos de longitud j .

La composición de edades se calculó para cada especie de manera global (todas las campañas combinadas) y para cada campaña. Mientras que los resultados del análisis global se presentan gráficamente en el presente informe, las matrices de ambos análisis se incluyen en la base de datos del proyecto.

2.9. Análisis de composición de la dieta

Para caracterizar la dieta de los salmones, se tomaron muestras de estómagos a partir de las capturas en el Fiordo Aysén. Los estómagos fueron extraídos cortando sus extremos proximal y distal (cardias-esófago y zona pilórica). Inmediatamente a la extracción, el contenido estomacal fue fijado inyectando con una jeringa de tres cuerpos una solución de formalina al 10% tamponada con borato de sodio (bórax). Los estómagos fueron rotulados y dispuestos en frascos independientes de 500 ml., inmersos en la solución de formalina al 10% tamponada. Posteriormente las muestras fueron enviadas al laboratorio (Dr. Ciro Oyarzún, Universidad de Concepción), donde fueron identificadas al nivel taxonómico más específico posible.

Para establecer la importancia de los diferentes ítemes alimentarios en la dieta de las especies analizadas, se separaron los ítemes por grupos mayores y luego se procedió a la determinación de órdenes y familias. Para el análisis del contenido estomacal se utilizó la metodología de frecuencias (Hyslop 1980) empleando las siguientes relaciones: i) frecuencia porcentual numérica (%N) número total de individuos de cada ítem alimentario expresado como porcentaje del total de individuos en todos los ítemes; ii) frecuencia porcentual de ocurrencia (%F) número de estómagos que contienen uno o más individuos de un ítem de alimento expresado como porcentaje del total de estómagos con contenido estomacal, por lo que el porcentaje acumulado puede ser mayor a 100 %, porcentaje en peso (%W) peso total de cada ítem alimentario expresado como peso total de todos los ítemes; con el fin de complementar el análisis, se utilizó además el índice de importancia relativa (%IIR) (Pinkas et al. 1971) expresado en porcentaje para cada una de las especies de salmónidos.

2.10. Muestreo experimental de retornantes con métodos video-acústicos

Con el fin de evaluar la factibilidad técnica y los desafíos metodológicos de la aplicación de esta nueva tecnología, se desarrolló tres campañas experimentales de muestreo de adultos retornantes de salmones coho y chinook por medio de una cámara video-acústica DIDSON (Soundmetrics Inc.) de frecuencia dual (1,1/1,8 MHz). De estas tres campañas, una fue orientada a salmón chinook, en el Río Mañihuales y dos a salmón coho, en los Ríos Aysén y Simpson (Tabla 9).

En cada lugar se definió una sección perpendicular al flujo del río, dividida en estaciones según la longitud del río (Tabla 5). La cámara fue instalada en una plataforma flotante y móvil, enfocada de manera perpendicular al curso del río. Para este propósito, se instaló estructuras de hierro temporales en ambas riberas y un sistema de poleas y cabos para guiar el desplazamiento de la plataforma a través de las estaciones escogidas (Figura 5).



Figura 5: Montaje de la cámara DIDSON para evaluación de retornantes de salmones chinook y coho en la cuenca del Río Aysén, año 2010.

Tabla 9: Lugares de muestreo de salmónidos retornantes efectuadas en la cuenca del Río Aysén con cámara video acústica DIDSON, año 2010.

Lugar	Sector	Posición geográfica	Fechas campaña	Especie objetivo
Río Mañihuales	Pasarela “El Furioso”	45° 13,5' S 72° 13,2' W	12 al 14 de noviembre. 17 al 19 de noviembre. 25 al 27 de noviembre.	Salmón chinook
Río Aysén	Paso Duhn	45° 24,2' S 72° 39,1' W	22 al 28 de abril de 2010	Salmón coho
Río Simpson	Piedra del Indio	45° 34,4' S 72° 4,8' W	4 al 6 de mayo de 2010	Salmón coho

Tabla 10: Longitud de la sección del río muestreada, número de estaciones, intervalos de muestreo y tasas de muestreo por intervalo en campañas de monitoreo video-acústico efectuadas en los ríos Aysén, Simpson y Mañihuales.

Lugar	Longitud sección muestreo (m)	Nº de estaciones	Intervalo por estación (h)	Tasa de muestreo por intervalo
Río Aysén	140	13	2,5	6 minutos de registro cada 20 minutos
Río Simpson	20	1	48	15 minutos de registro cada 30 minutos
Río Mañihuales	60	5	4	6 minutos de registro cada 20 minutos

La cámara operó con una amplitud horizontal de 28,8°, un lente vertical de 8°, un ángulo de incidencia de 4°-8° respecto a la superficie del río y con una frecuencia de 1,8 MHz. Se registró una ventana de observación entre 2 y 12 m desde la cámara con tasas de muestreo de 6-15 min, cada 20-30 min, las grabaciones se realizaron en base a estaciones fijas de conteo, siguiendo una secuencia aleatoria (Tabla 9). El uso de esta nueva tecnología demandó importantes esfuerzos para ajustar protocolos de operación respecto de su montaje y operación.

2.10.1. Estimación de la talla individual y número de retornantes

La talla estimada acústicamente resulta del producto entre el número de haces interceptados por un pez y el ancho proyectado del haz acústico. Las grabaciones fueron post-procesadas en el Centro Trapananda con el programa DIDSON versión 5.23.09, distribuido por la compañía Sound Metrics Corporation. Se debe considerar que la resolución disminuye con la distancia (1 cm a 2 m de distancia, 5 cm a 12 m).

Se clasificó como retornantes aquellos individuos que presentaron tanto una dirección de nado como un desplazamiento neto río arriba. La expansión volumétrica del conteo fue calculada a partir de la relación entre el número de peces y el volumen observado ($8^\circ \times 28,8^\circ$).

3. RESULTADOS

3.1. Composición y diversidad de la fauna íctica

Durante las campañas realizadas en el Fiordo Aysén se capturó un total de 11.334 individuos pertenecientes a distintas especies nativas, distribuidas en 18 taxa (Tabla 11). De este total, sólo 205 individuos fueron obtenidos mediante espineles, en los cuales se capturó principalmente merluza austral, tollo y robalo, sin registro alguno de salmónidos. Las especies más abundantes en las capturas obtenidas en el Fiordo Aysén fueron robalo, con un 47,0% de la abundancia total, seguido de pejerrey y brótula, con 39,9% y 2,12% de la abundancia total, respectivamente (Tabla 11, Figura 6).

Un total de 696 salmónidos fueron capturados en el Fiordo Aysén, lo que representó un 4,4% de la captura total. Dentro de los cuales, el salmón coho fue la especie más importante (30,9%), seguido de trucha café (25%), salmón chinook (24%) y trucha arcoiris (21%). Sólo 6 individuos de salmón del Atlántico fueron capturados, equivalentes a sólo un 0,8% de la captura de salmónidos en el fiordo (Tabla 12, Figura 6). Otros 307 salmónidos fueron capturados o recolectados (carcazas) en distintos sitios de la cuenca del Río Aysén, donde la especie más abundante fue salmón chinook (96%, Tabla 12).

El análisis de las capturas del fiordo por zonas (Figura 7) indicó que pejerrey fue más abundante en las zonas 1 y 2, mientras que robalo predominó en la zona 3 (cabeza del estuario). La importancia relativa de los salmónidos fue también mayor en la zona 3, donde representaron un 12% de las capturas en número. En contraste, en la zona 1, la captura de salmónidos representó sólo un 2,6% del total. Se identificó también diferencias importantes dentro de este último grupo. Mientras que en la zona 1 (boca del estuario) predominaron trucha café (39%) y trucha arcoiris (32%), en la zona 3 predominaron salmónes coho

(30%) y salmón chinook (27%). Sin perjuicio de los cambios descritos en su importancia relativa, todas las especies presentes de salmónidos tendieron a ser menos abundantes en las capturas realizadas en los sectores medio y boca del fiordo (zonas 2 y 3).

Tabla 11: Listado de especies nativas capturadas en el Fiordo Aysén y captura según arte de pesca, en el área y periodo de estudio.

Especie	Nombre científico	Arte de pesca		Total captura	Porcentaje captura (%)
		Red de enmalle	Espinel		
Brótula	<i>Salilota australis</i>	246	8	254	2,12
Cabrilla	<i>Prolatilus jugularis</i>	28	1	29	0,24
Chancharro	<i>Sebastes capensis</i>	24	21	45	0,38
Colde	<i>Patagonotothen sp</i>	63	-	63	0,53
Congrio dorado	<i>Genypterus blacodes</i>	3	24	27	0,5
Congrio negro	<i>Genypterus maculatus</i>	1	-	1	< 0,01
Lenguado	<i>Paralichthys microps</i>	14	-	14	0,12
Merluza austral	<i>Merluccius australis</i>	93	84	177	1,48
Merluza de cola	<i>Macruronus magellanicus</i>	157	-	157	1,31
Pampanito	<i>Stromateus stellatus</i>	24	-	24	0,20
Peladilla	<i>Aplochiton sp</i>	11	-	11	0,09
Pejerrey	<i>Odontesthes regia</i>	4787	2	4787	39,94
Pez piedra ²	<i>Cottoperca gobio</i>	23	-	23	0,19
Raya	<i>Bathyraja sp.</i>	-	2	2	0,02
Robalo	<i>Eleginops maclovinus</i>	5636	30	5636	47,02
Rollizo	<i>Pinguipes chilensis</i>	30	-	30	0,25
Sardina austral	<i>Sprattus fuegensis</i>	20	-	20	0,17
Tollo	Orden Carchariniformes	1	33	34	0,28
Total		11161	205	11334	

² o torito de los canales

Tabla 12: Número de salmónidos muestreados de las capturas del fiordo y cuenca del río Aysén (2009-2010). Pesca artesanal corresponde al muestreo de la captura incidental de salmónidos en Puerto Chacabuco.

Especie	Nombre científico	Campañas Fiordo Aysén	Pesca Artesanal	Sub-total Fiordo	Carcasas y desovantes	Total
Salmón chinook	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	127	16	143	294	437
Trucha café	<i>Salmo trutta</i>	132	3	135	3	138
Salmón coho	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	163	75	238	5	243
Trucha arcoiris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	101	73	174	5	179
Salmón Atlántico	<i>Salmo salar</i>	4	2	6	-	6
Total		527	169	696	307	1003

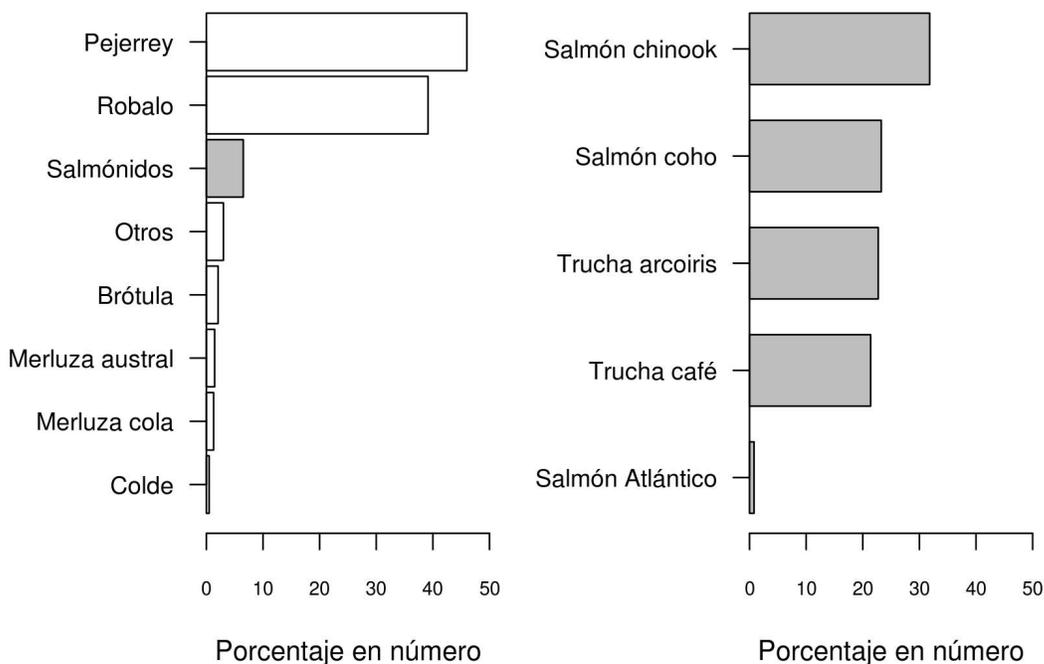


Figura 6: Composición específica global dentro de la captura total de peces (izquierda) y del sub-grupo de los salmónidos (derecha) en el Fiordo Aysén (2009-2010).

El análisis de la riqueza de especies ícticas observada en las capturas del Fiordo Aysén y definida por 18 especies (13 nativas y 5 salmónidos, Tabla 11), arroja índices de riqueza específica de Margalef mas bien bajos, con valores medios en torno a 1,6, que tienden a

decrecer desde la cabeza (Zona 3) hacia la boca del fiordo (Zona 1) y a ser mayores en los muestreos de verano y otoño, donde alcanzan valores cercanos a 2,5, que en los de invierno y primavera, donde baja a valores cercanos a 1 en algunas zonas y campañas (Figura 8).

De acuerdo a los resultados obtenidos, el Fiordo Aysén presenta también bajos índices de diversidad, con un valor H en torno a 1,0, que también tiende a ser mayor en la cabeza del fiordo (Figura 8). Esta baja diversidad está relacionada en parte con la relativamente baja riqueza específica, como así también con el predominio en abundancia de dos especies: robalo y pejerrey, lo que se refleja en los bajos valores del índice de equidad calculado para la mayoría de las zonas y campañas (Figura 8).

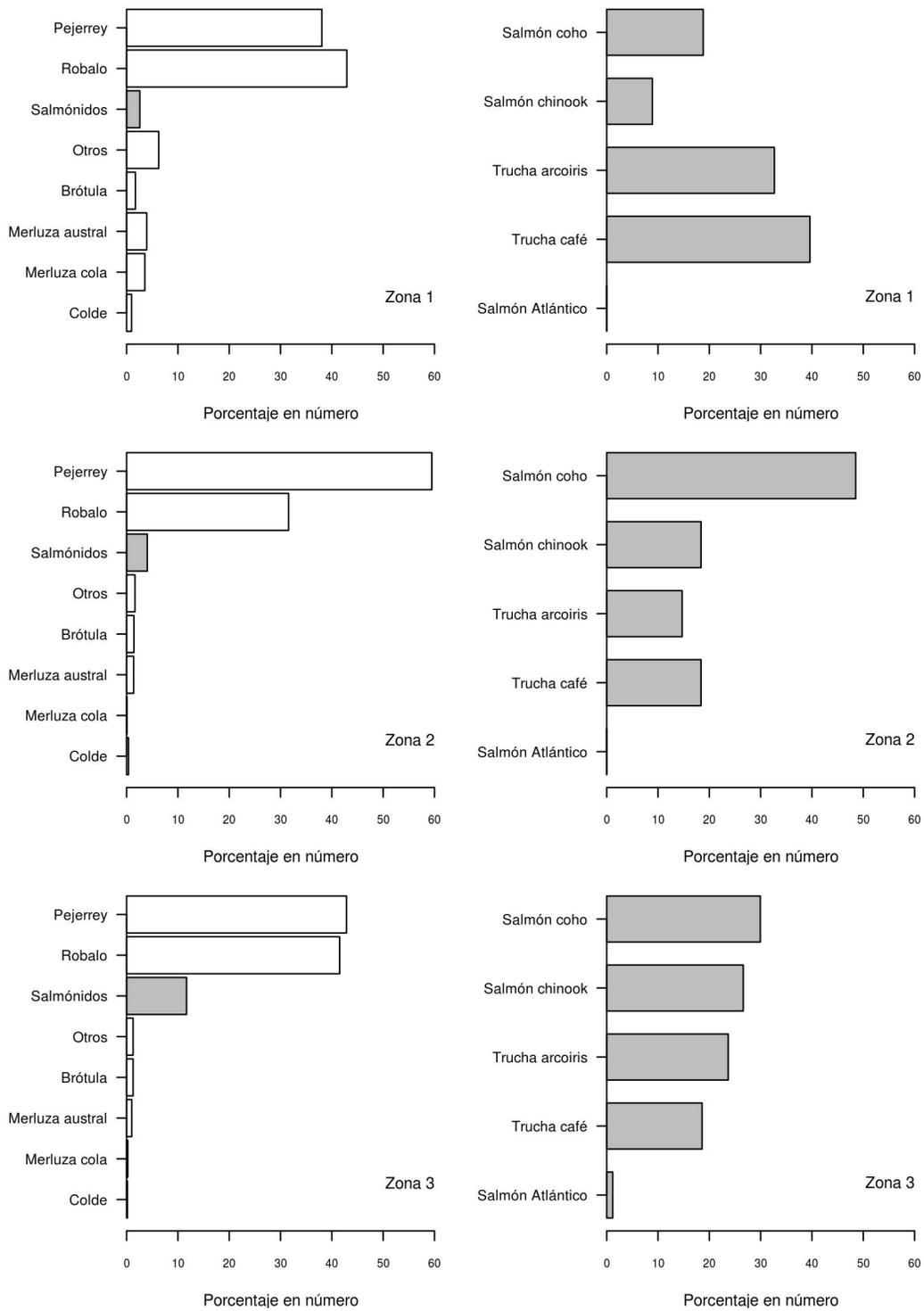


Figura 7: Composición específica por zona dentro de la captura total de peces (izquierda) y del sub-grupo de los salmónidos (derecha) en el Fierdo Aysén (2009-2010).

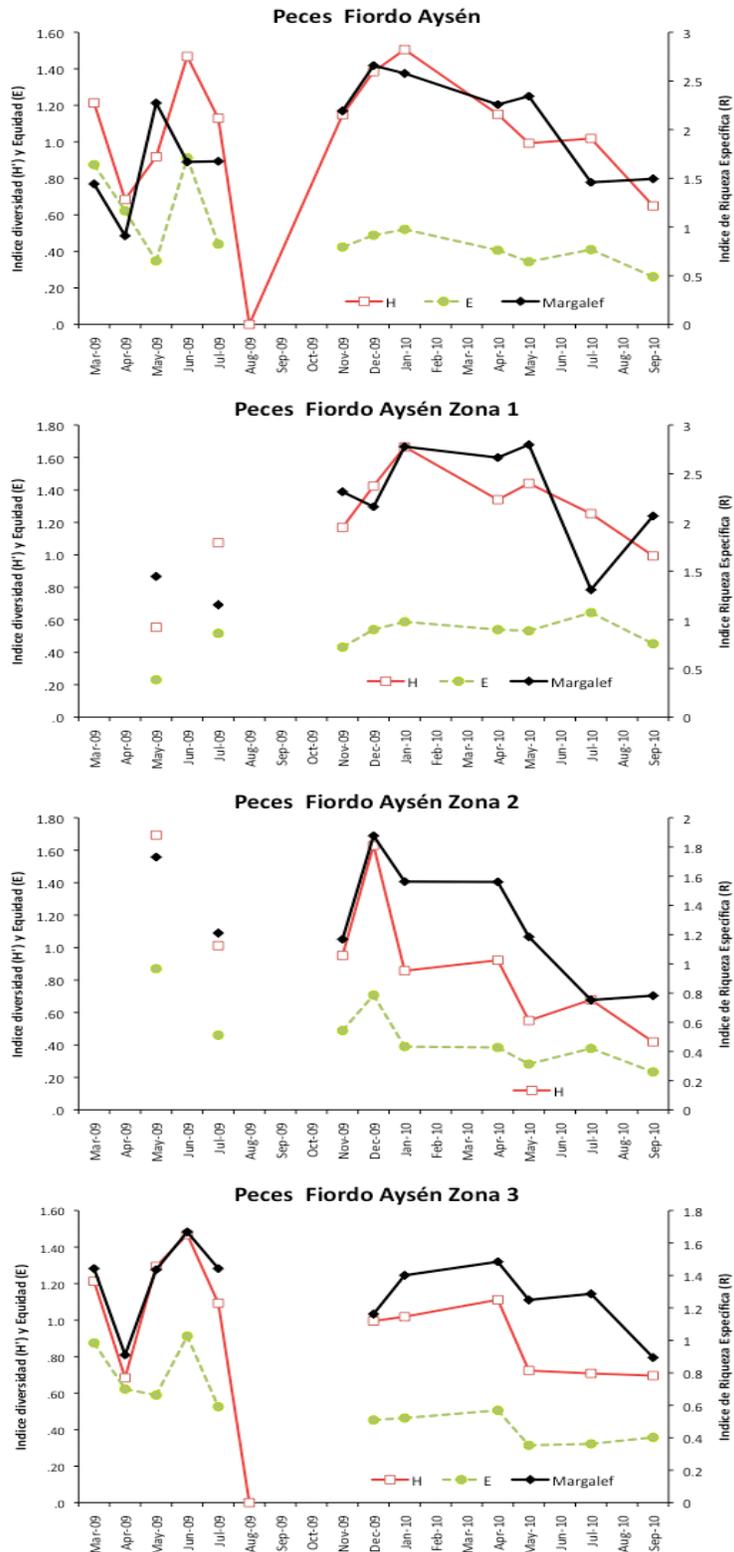


Figura 8: Índice de diversidad de Shannon e índice de riqueza específica de Margalef para la comunidad de peces presente en el Fiordo Aysén entre mayo del 2009 y septiembre de 2010.

3.2. Abundancia relativa de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén (CPUE)

3.2.1. Salmón chinook

En el caso del salmón chinook, el índice muestra una tendencia decreciente desde el otoño del 2009 hacia fines del año 2010, aún cuando también insinúa probables fluctuaciones a nivel estacional (Figura 9). En este caso la variable temporal estación del año (SEASON), en la cual estaría recogida la variación de la abundancia, fue la que más aportó en explicar los cambios de la CPUE con una significancia alta $P < < 0,05$ (Tabla 13). La otra variable importante fue el tamaño de la red (TRAMA). Basados en este índice y su comportamiento podemos decir que la abundancia de salmón chinook en el Fiordo Aysén sufrió una importante merma entre el otoño del 2009 y el invierno del 2010, quedando la duda una eventual fluctuación.

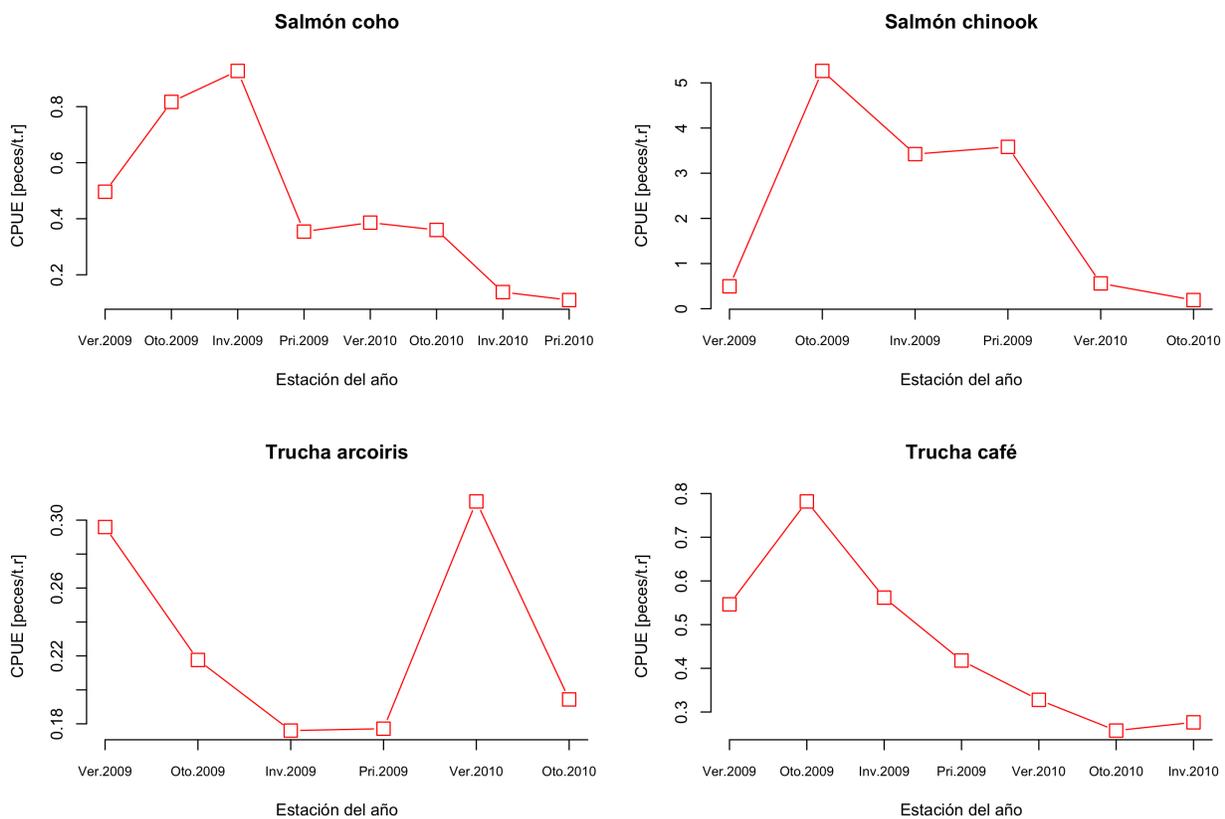


Figura 9: CPUE estándar estacional de salmón coho, salmón chinook, trucha arcoiris y trucha café en el Fiordo Aysén entre mayo del 2009 y septiembre de 2010.

Tabla 13: Tabla de devianza del ajuste del glm para explicar la variabilidad de la CPUE del salmón chinook en el Fiordo Aysén entre mayo de 2009 y septiembre de 2010. $p(> X^2)$ corresponde a la probabilidad (test de chi-cuadrado) de que la razón de verosimilitud de los modelos (alternativo y nulo) sea igual a uno.

	Grados de libertad	Devianza	Grados de libertad (residuales)	Devianza (residuales)	$p(> X^2)$
Null			102	118,730	
Season	6	47.733	95	70,997	1,91E-02
Zona	2	53.206	93	67,791	0,3455366
Trama	5	35.074	88	32,717	0,0003024

3.2.2. Trucha café

De todas las variables explicativas consideradas en el modelo sólo la estación (SEASON) y el tamaño de malla (TRAMA) fueron significativas estadísticamente para explicar la variabilidad observada en la CPUE (Tabla 14). En este caso la tendencia de la variable temporal (SEASON) asociada a la abundancia muestra una caída importante desde el verano-otoño del 2009 hasta el invierno del 2010, sin una insinuación clara de fluctuaciones (Figura 9). Como se trata de una especie de vida libre donde se esperan fluctuaciones de la abundancia en el fiordo, producto de la llegada y salida del contingente reproductivo, es que no se pueden descartarse de manera categórica dichas oscilaciones, más aún si faltó conocer lo que ocurrió hacia fines del 2010.

Tabla 14: Tabla de devianza del ajuste del glm para explicar la variabilidad de la CPUE de la trucha café en el Fiordo Aysén entre mayo de 2009 y septiembre de 2010. $p(> X^2)$ corresponde a la probabilidad (test de chi-cuadrado) de que la razón de verosimilitud de los modelos (alternativo y nulo) sea igual a uno.

	Grados de libertad	Devianza	Grados de libertad (residuales)	Devianza (residuales)	$p(> X^2)$
Null			74	31,794	
Season	6	5,634	68	26,160	0,01592
Zona	2	0,118	66	26,042	0,84909
Trama	4	6,117	62	19,926	0,00196

3.2.3. Salmón coho

La CPUE estándar como índice de abundancia relativa fue estimado para los salmónidos de cultivo y de vida libre. En el caso del salmón coho, el índice muestra una tendencia decreciente hacia fines del 2010 (Figura 9), no obstante esta debe ser vista con cuidado pues la variable temporal estación del año (SEASON), en la cual estaría recogida la variación de la abundancia, no fue estadísticamente significativa en explicar la variabilidad de la CPUE (Tabla 15). De todas las variables consideradas en el análisis la única que tuvo importancia para explicar los cambios de la CPUE fue el tamaño de la red (TRAMA).

Tabla 15. Tabla de devianza del ajuste del glm para explicar la variabilidad de la CPUE del salmón coho en el Fiordo Aysén entre mayo de 2009 y septiembre de 2010.

	Df	Devianza	Resid. Df	Resid. Dev	P(> Chil)
Null			102	91,8250	
Season	7	9,2810	95	82,543	0,22
Zona	2	5,5870	93	76,957	0,06
Trama	5	12,7080	88	64,249	0,02433

3.2.4. Trucha arcoiris

En este caso todas las variables explicativas consideradas en el modelo no fueron estadísticamente significativas para explicar la variabilidad observada en la CPUE, por lo cual la tendencia de la variable temporal debe ser tomada con cuidado (Tabla 16). No obstante, el índice muestra una caída importante a lo largo del año 2009 que tiene sentido si pensamos en peces perdidos desde centros de cultivo, mas el aumento sorpresivo en el verano del 2010, producto de una captura excepcional de un lance ocurrido en dicha estación (Figura 9), resulta difícil de explicar, a no ser que se trato de un nuevo contingente escapado.

Tabla 16: Tabla de devianza del ajuste del glm para explicar la variabilidad de la CPUE de la trucha arcoiris en el Fiordo Aysén entre mayo de 2009 y septiembre de 2010. $p(> X^2)$ corresponde a la probabilidad (test de chi-cuadrado) de que la razón de verosimilitud de los modelos (alternativo y nulo) sea igual a uno.

	Grados de libertad	Devianza	Grados de libertad (residuales)	Devianza (residuales)	$p(> X^2)$
Null			77	42,913	
Season	6	3,403	71	39,510	0,7296
Zona	2	1,818	69	37,692	0,3815
Trama	5	2,380	64	35,312	0,7731

3.3. Estructura de tallas de salmónidos en el Fiordo Aysén

El análisis de las capturas de salmónidos del Fiordo Aysén están basados en la longitud horquilla (LH) del pez, esto a modo de estandarizar las longitudes dado el desgaste que presentan en el pedúnculo caudal muchos de los salmones de vida libre escapados desde centros de cultivo. La estructura de tallas de los salmónidos capturados con red de enmalle en el Fiordo Aysén fue obtenida mediante la suma de distribuciones ponderadas por la selectividad de las redes.

3.3.1. Salmón chinook

La composición de tallas estimada para la población de salmón chinook del Fiordo Aysén, vulnerable a las distintas redes usadas en el muestreo, durante los años 2009 y 2010, se observa en la Figura 10. En 2009, la estructura de tallas estuvo compuesta por tres grupos de tamaños claramente diferenciables. El grupo de tamaños medios apareció en julio, en cambio los peces más pequeños (menores a 20 cm) y los adultos mayores a 70 cm (LH) lo hicieron durante primavera, específicamente estos últimos en los meses de noviembre y diciembre.

En el año 2010, la estructura de tallas de salmón chinook presentó dos grupos (Figura 10). El primero, y más importante en cuanto a su abundancia, estuvo constituido por ejemplares juveniles bajo los 35 cm de longitud de horquilla, los cuales aparecieron en los muestreos de enero, abril, mayo, julio y septiembre, lo que parece indicar que ejemplares juveniles de salmón chinook están presentes durante todo el año en el Fiordo. En cambio los pocos adultos detectados, constituyentes del segundo grupo, aparecieron en el mes de enero y septiembre.

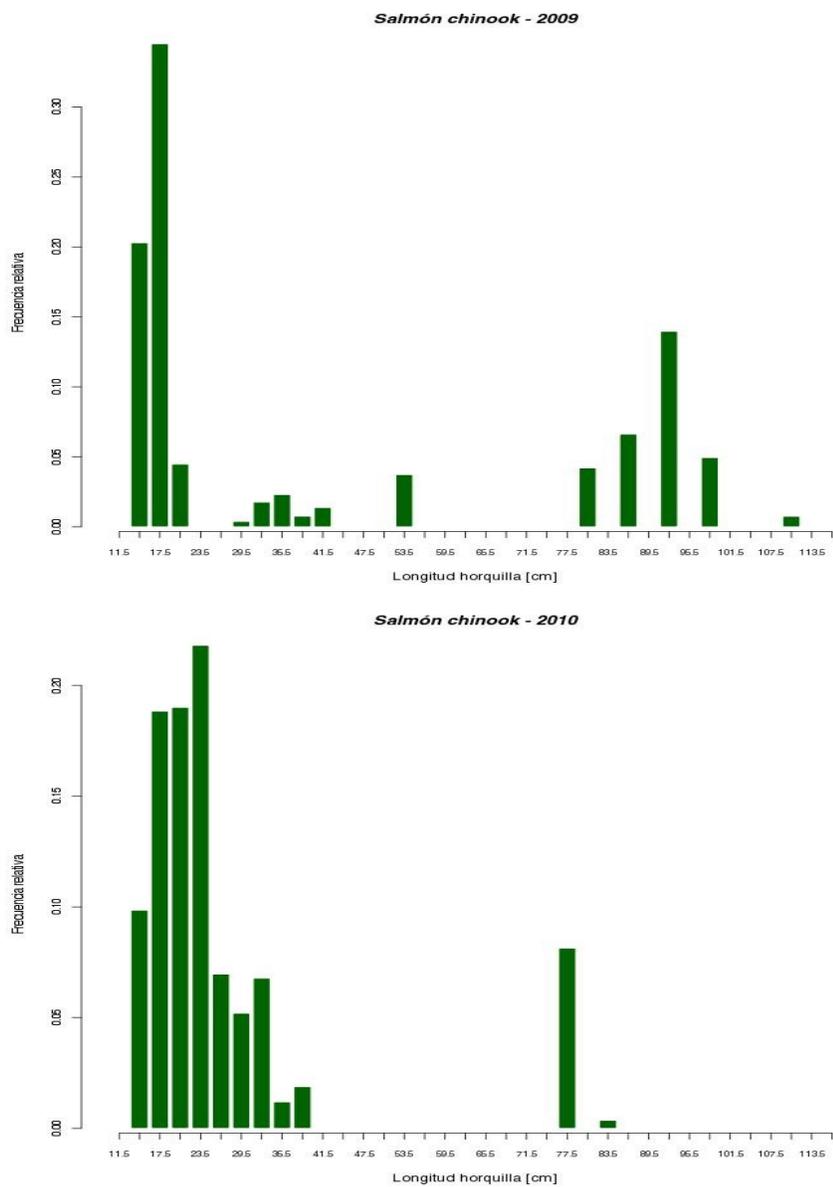


Figura 10: Estructura de tamaños del salmón chinook capturados con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2009 y 2010.

i. Variación temporal de la composición de tallas

En el año 2009, a nivel mensual la presencia de salmón chinook fue baja, sólo hubo peces capturados en julio, noviembre y diciembre, esto trajo consigo estructuras de tamaños a nivel mensual discontinuas. En diciembre la estructura de tamaños presentó un amplio rango, destacando la fracción juvenil en torno a los 20 cm de LH y la presencia, aunque baja, de animales de gran tamaño (Figura 11). En el año 2010, la composición mensual de tamaños también se presentó discontinua con predominio de peces juveniles bajo los 40

cm de LH ($L_{50\%} = 45$ cm como referencia). En este rango, destacan el grupo en torno a los 20 cm LH, que estuvo presente en enero, abril, mayo y septiembre. La presencia de ejemplares adultos es casi nula, lo cual es consistente con el mismo periodo del año 2009 (Figura 12).

ii. Variación espacial de la composición de tallas

En este recurso se observa una variabilidad espacial importante en las estructuras de tallas durante 2009 y 2010. En 2009, la zona 3 fue la que presentó la estructura con el rango de tamaños más amplios y es donde durante el mes de diciembre se detectaron los peces de mayor tamaño (Figura 13). Hacia la boca del Fiordo, sólo fueron detectados ejemplares de chinook bajo los 40 cm LH (juveniles). La estructura de tamaños de la zona media del fiordo (zona 2) presentó dos grupos de peces, el primero con tamaños entre 30 a 40 cm LH y el segundo con peces menores a 20 cm. En la zona 1 la estructura de tamaños es poco informativa por el bajo número de peces capturados en el muestreo.

Durante el año 2010, se mantiene el patrón de mayor presencia de peces, en la zona 3. No obstante, la fracción adulta es prácticamente nula, siendo la fracción juvenil la dominante en las tres zonas, en este rango fueron los peces en torno a los 20 cm LH los que dominan las estructuras de tamaños de las tres zonas del Fiordo Aysén (Figura 14).

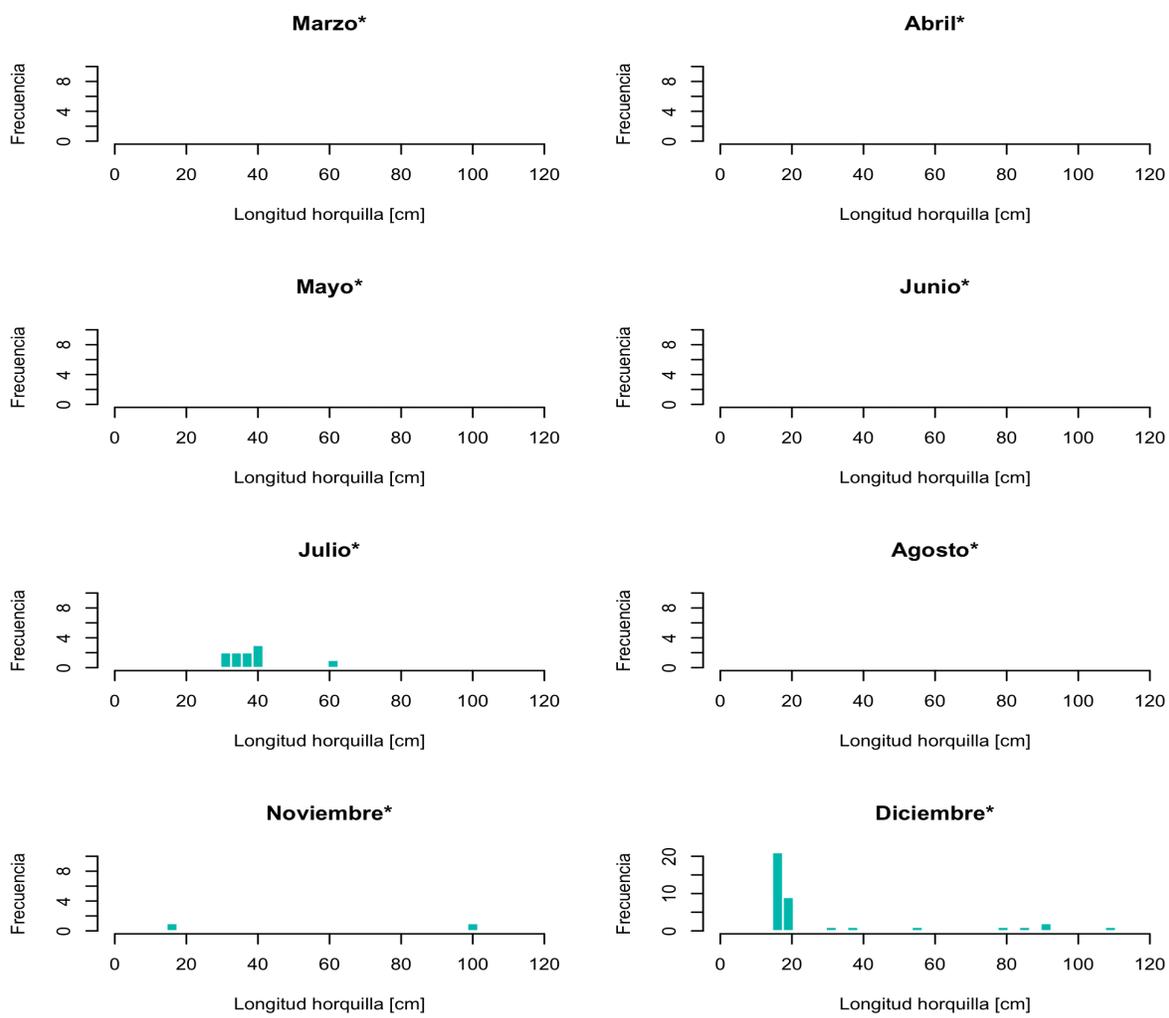


Figura 11: Estructuras de tallas mensuales del salmón chinook capturados con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2009.

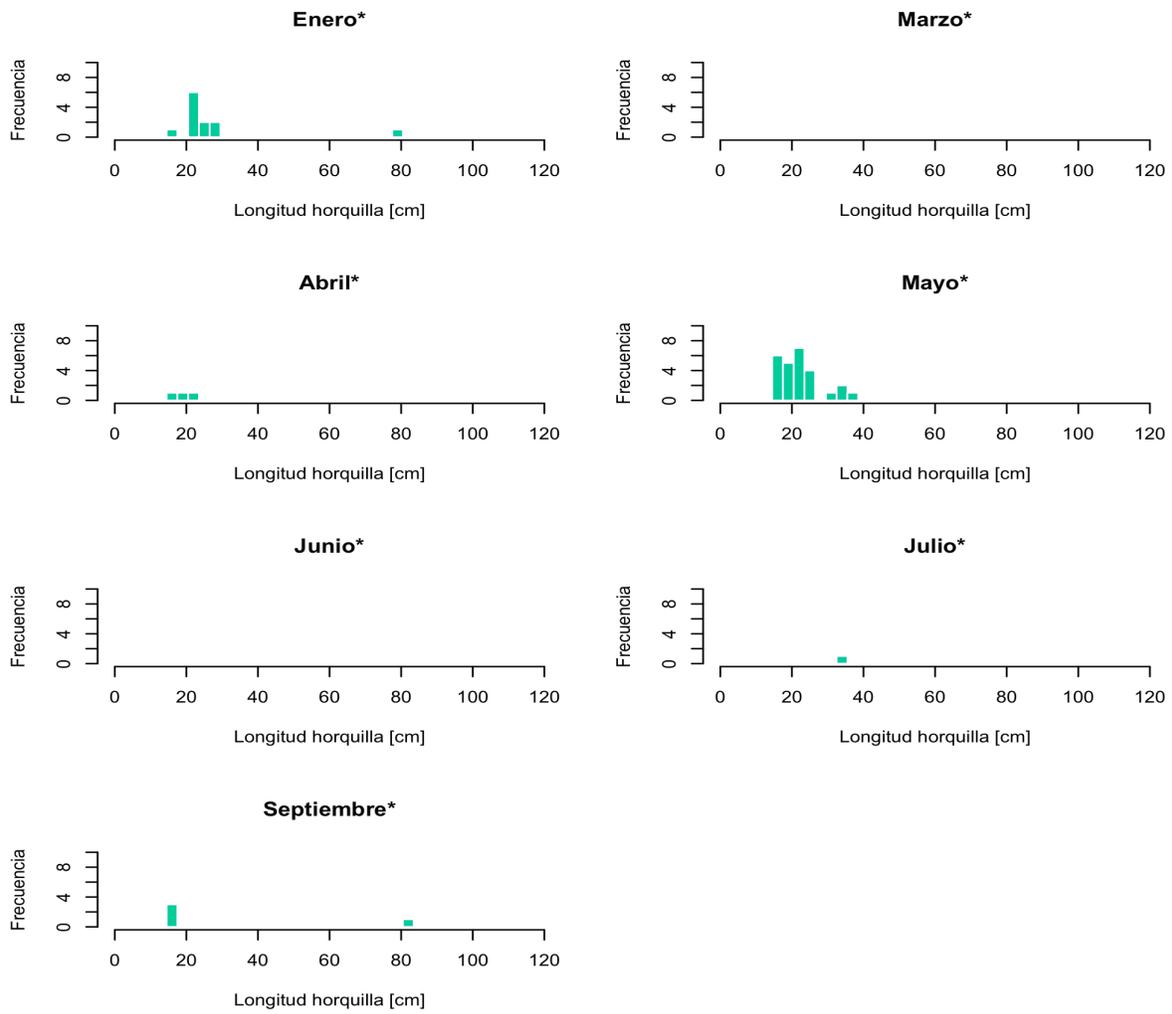


Figura 12: Estructura mensual de tamaños del salmón chinook capturados con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2010.

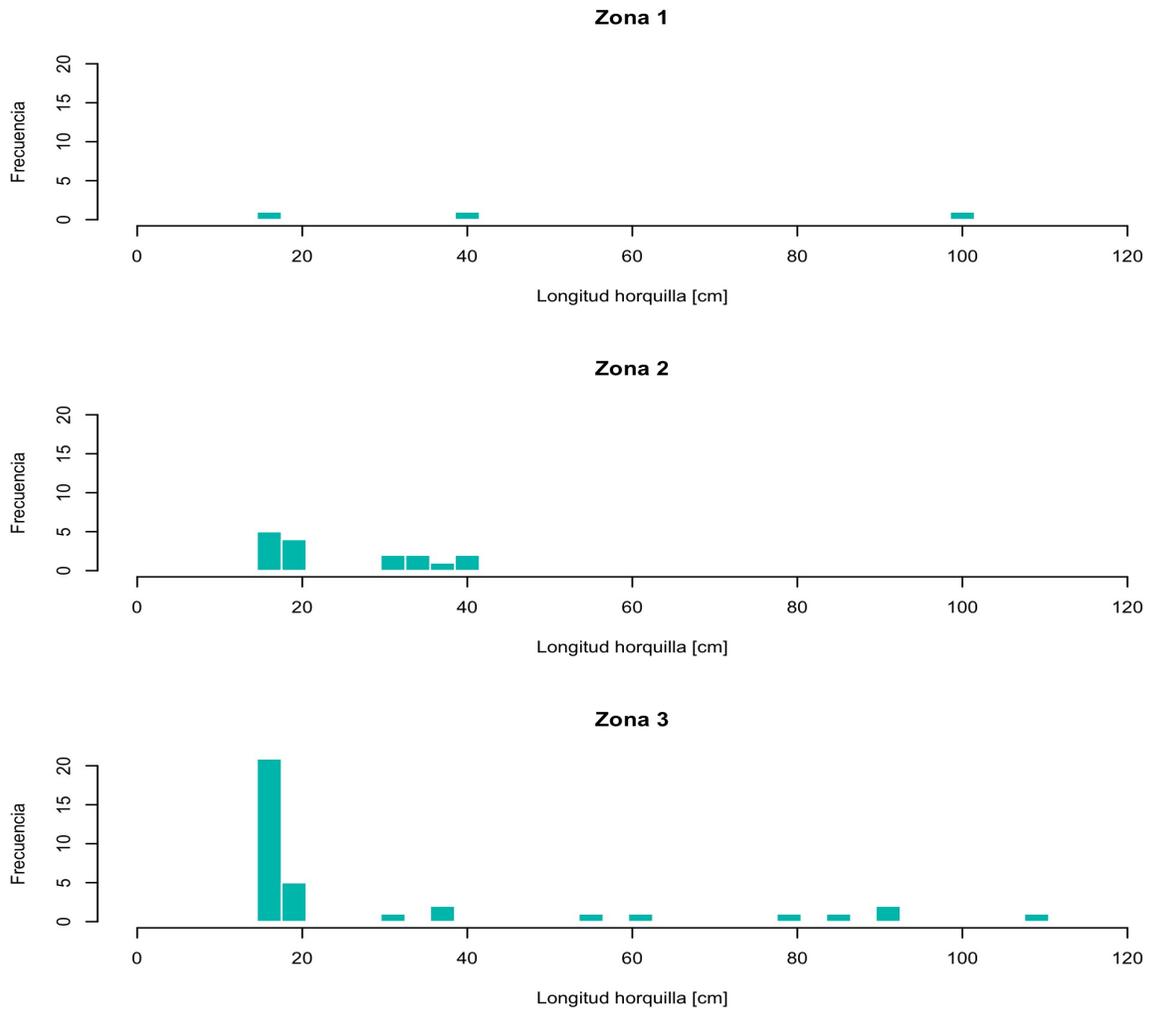


Figura 13: Estructura de tallas del salmón chinook capturados con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2009.

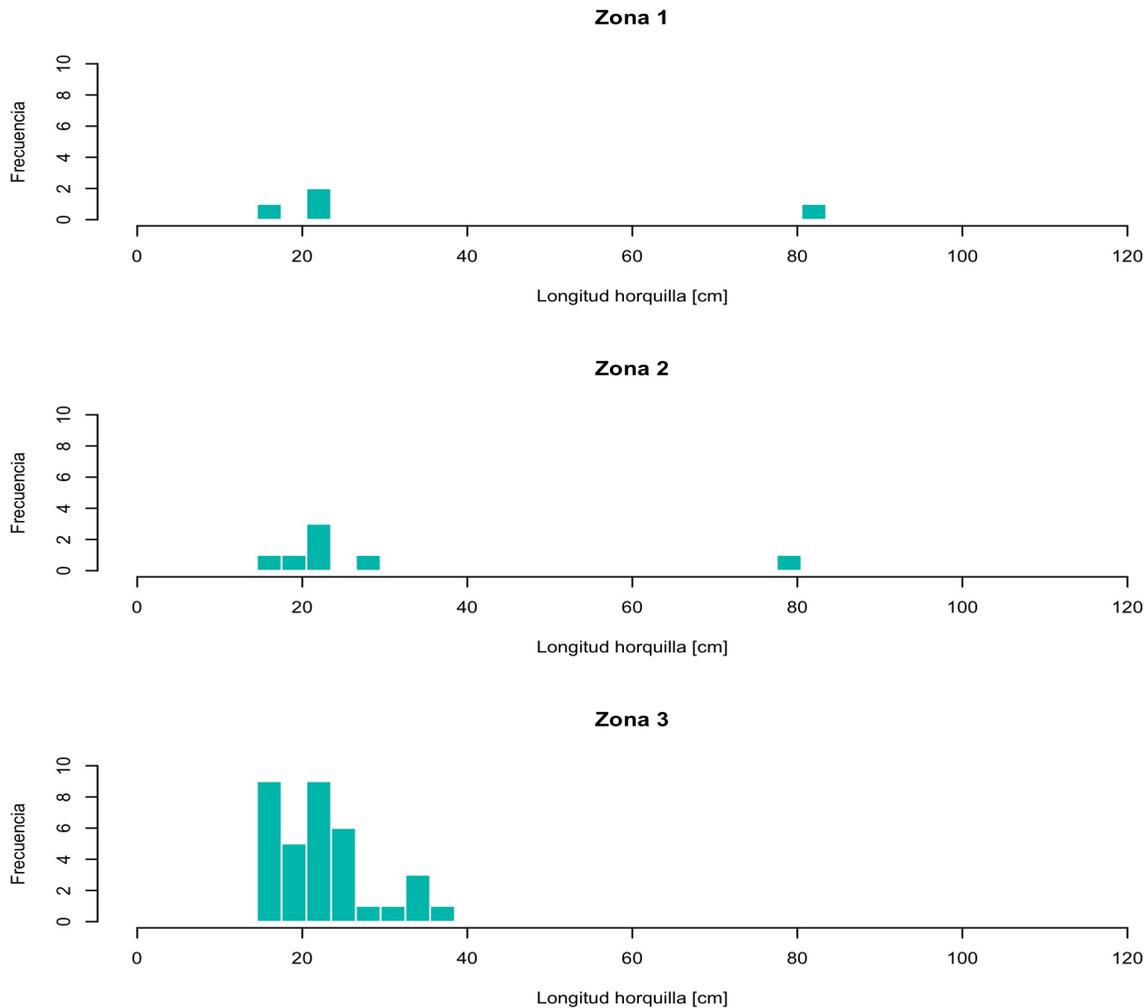


Figura 14: Estructura de tallas del salmón chinook capturados con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2010.

3.3.2. Trucha café

Trucha café presente en el Fiordo Aysén durante el año 2009 mostró una composición de tamaños entre los 13,5 y 53,5 cm de longitud de horquilla con varias modas. La estructura de tamaños de este año es continua entre los 13,5 y 38,5 cm, dentro de la cual los peces bajo los 20 cm están fuertemente representados (Figura 15).

En el año 2010 la estructura de tamaños de la trucha café en el Fiordo Aysén presentó tres grupo claramente diferenciados. El primero netamente juvenil con una moda en torno a los 17,5 cm, el segundo compuesto por juvenil próximos a la talla de primera madurez ($L_{50\%} = 32$ cm como referencia). El segundo constituido por adultos jóvenes y el último por unos pocos ejemplares adultos en torno a los 47,5 cm de LH (Figura 15). La importante presencia de ejemplares bajo los 20 cm detectados el año 2009 se mantiene. En general

podemos decir que durante el periodo muestreado el año 2010, el estadio juveniles fue el dominante.

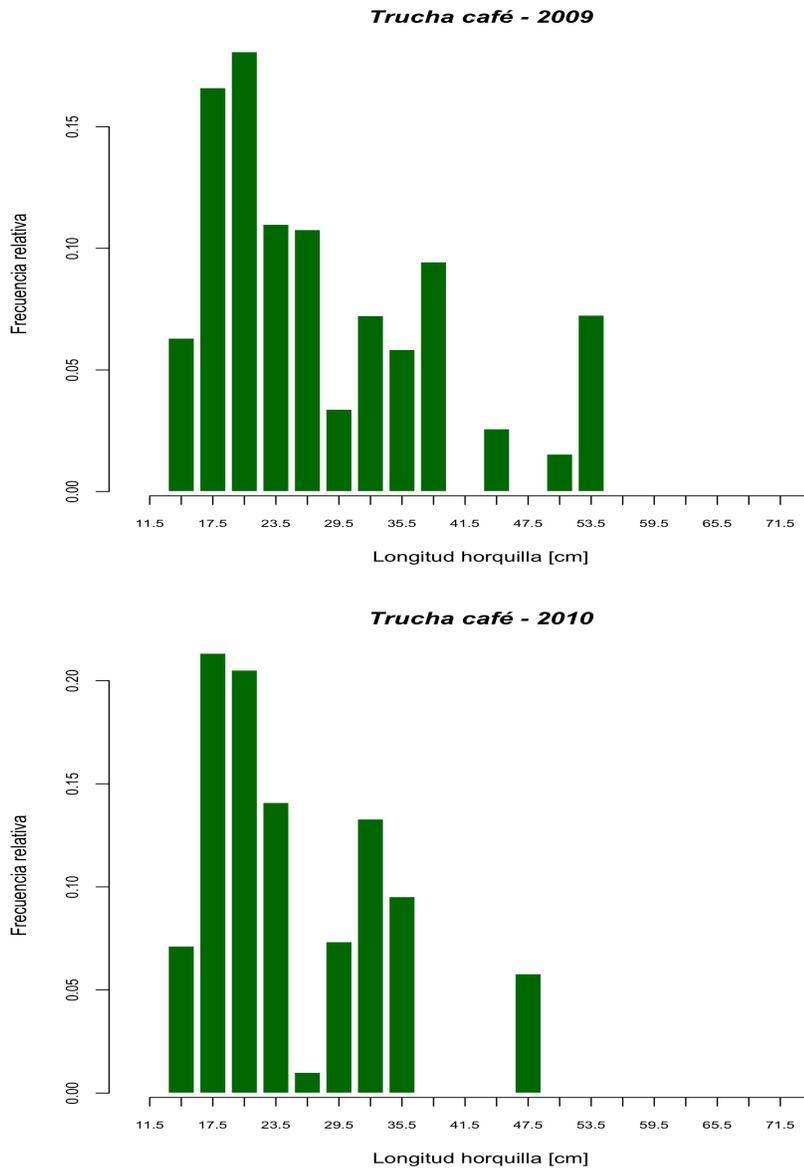


Figura 15: Estructura de tamaños de la trucha café capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén años 2009 y 2010.

i. Variación temporal de la composición de tallas

En el año 2009 se observa una variabilidad importante en la estructura de tamaños a nivel mensual de la trucha café en el Fiordo Aysén (Figura 16). En los meses de marzo, mayo, julio y noviembre hubo una muy baja presencia de esta especie en los muestreos, en tanto que en abril, junio, y agosto fue nula. Sólo en el mes de diciembre la presencia de ejemplares fue importante y su estructura de tamaños presentó tres grupos: el primero entre 16 y 40 cm de LH y el segundo entre los 25 y 40 cm, y el tercero entre los 53 y 56 cm. Este último grupo correspondió a ejemplares adultos, si se tiene como referencia una L50% de 32 cm LH. Otra característica de la estructura de tallas de diciembre es la presencia de ejemplares pequeños bajo a los 20 cm de LH, los cuales se insinúan en noviembre .

En el año 2010, se detectó la presencia de trucha café en los muestreos de enero, abril, mayo y julio y septiembre (Figura 17). Sólo en el mes de enero, mayo y septiembre es posible analizar la estructura de tamaños de este recurso presente en el Fiordo Aysén, ya que en los demás meses su presencia en los muestreos fue esporádica o nula. La estructura de enero, estival, presenta un sólo grupo entre los 16 y 36 cm de LH, constituido principalmente por juveniles. La presencia de adultos sobre los 32 cm, durante este año es muy escasa. En septiembre hay presencia aunque bajas de juveniles bajo los 20 cm LH (Figura 17).

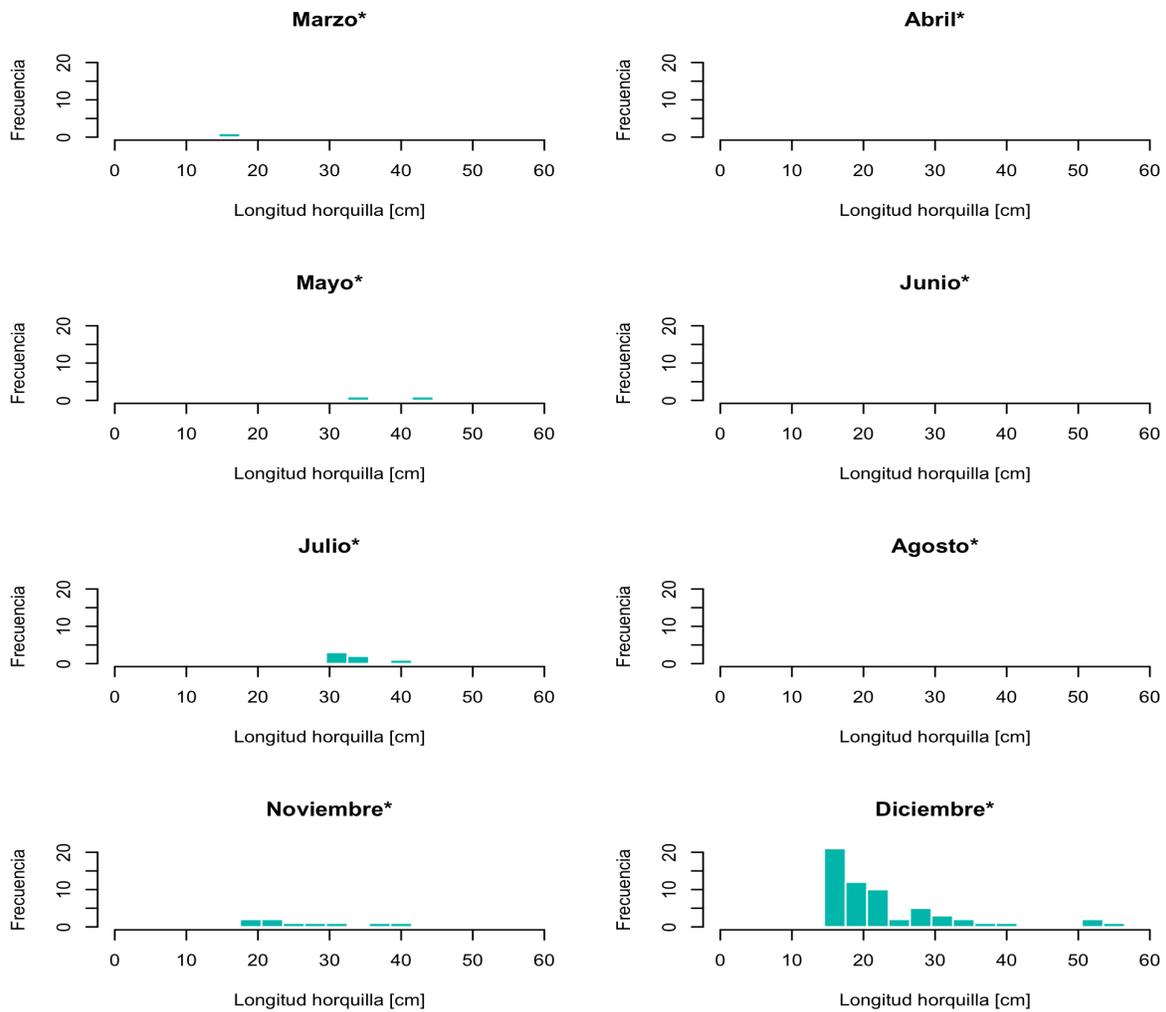


Figura 16: Estructura de tallas mensual de trucha café capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2009.

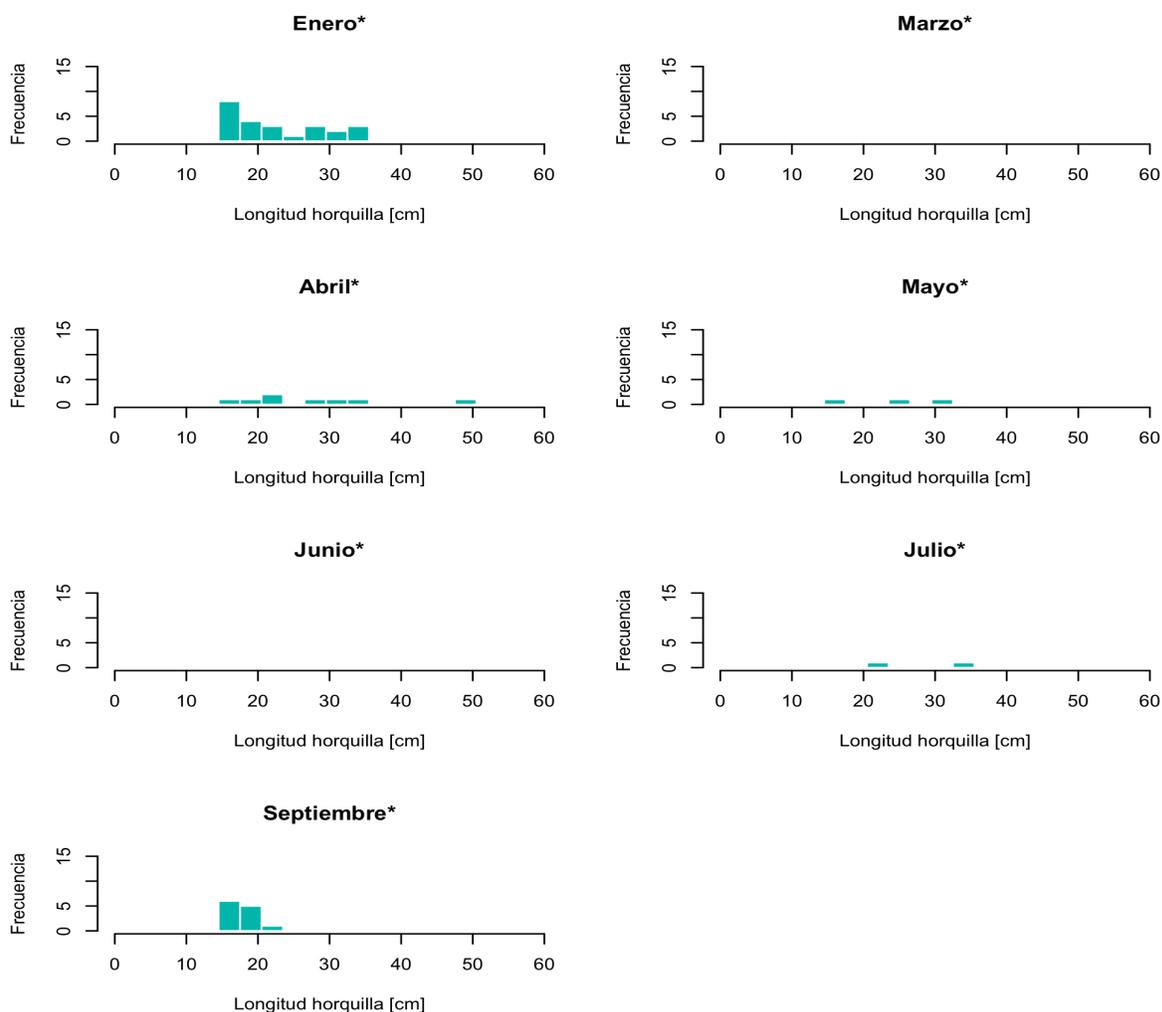


Figura 17: Estructura de tallas mensual de trucha café capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2010.

ii. *Variación espacial de la composición de tallas*

Durante el año 2009, ejemplares de trucha café estuvieron presentes en las 3 zonas del Fiordo Aysén, con el siguiente orden de importancia : zona 3, zona 1 y zona 2. En la zona más cercana a la boca del fiordo (zona 1) hubo prácticamente sólo juveniles. En la zona 2 juveniles y adultos. En la zona 3 la estructura de tallas estuvo caracterizada por la presencia de los tres grupos: el primero conformado por ejemplares pequeños bajo los 20 cm, el segundo por una mezcla de juveniles y adultos y el tercero por peces adultos sobre los 50 cm de LH (Figura 18).

En el 2010 se mantiene el patrón de presencia del 2009. No obstante en la zona 1 se insinuó una mayor presencia de adultos. En la zona 2 se diferencian dos grupos de forma clara, uno juvenil y otro adulto joven. En la zona 3, continua la presencia de peces pequeños bajo los 20 cm LH y del grupo juvenil tardío en torno a los 30 cm LH (Figura 19). A diferencia del año 2009 no hubo presencia de peces adultos mayores a 40 cm, lo cual puede ser producto que estos adultos son visibles sólo en primavera y verano en el Fiordo, tal como se evidencia en el muestreo de diciembre.

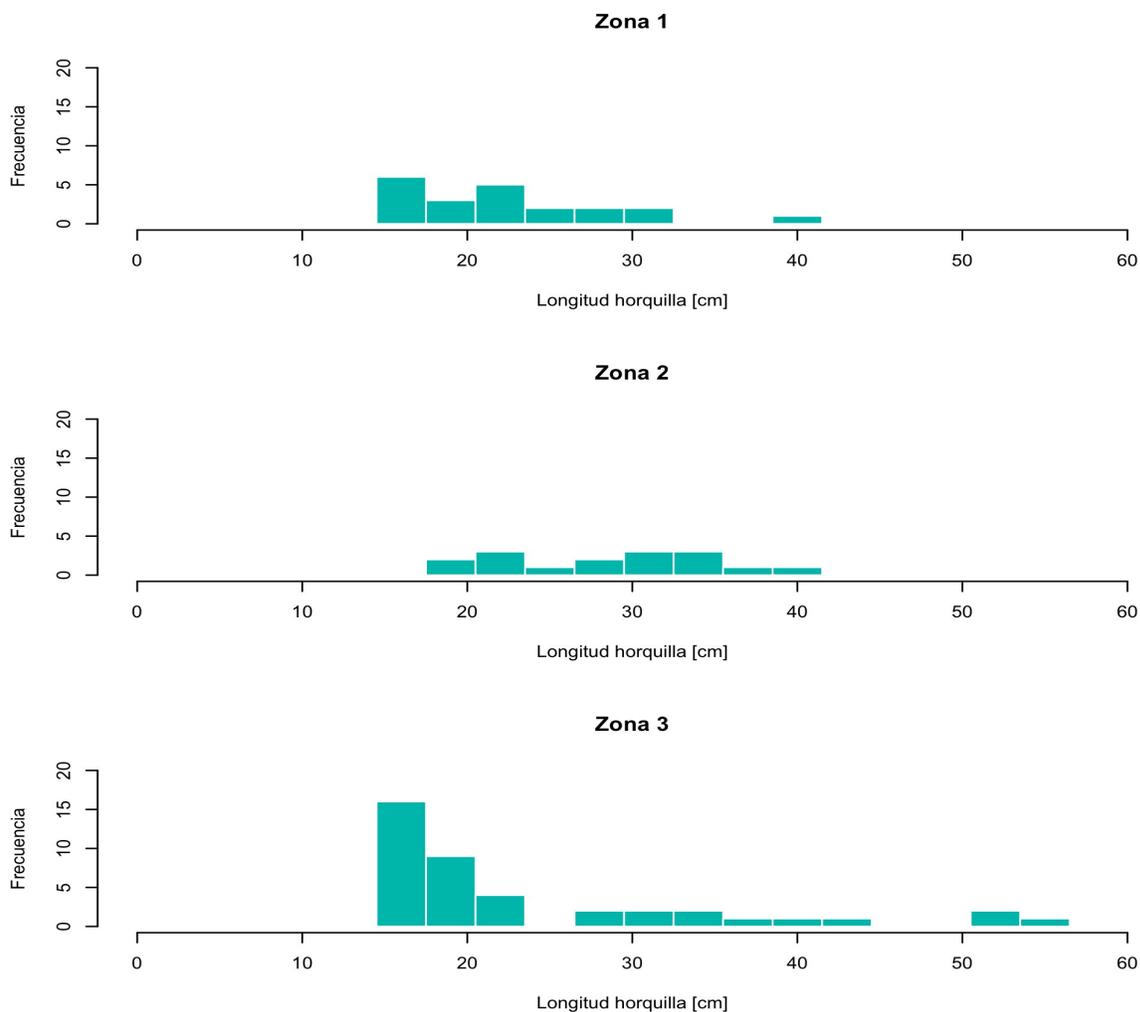


Figura 18: Estructura de tallas de trucha café capturadas con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2009.

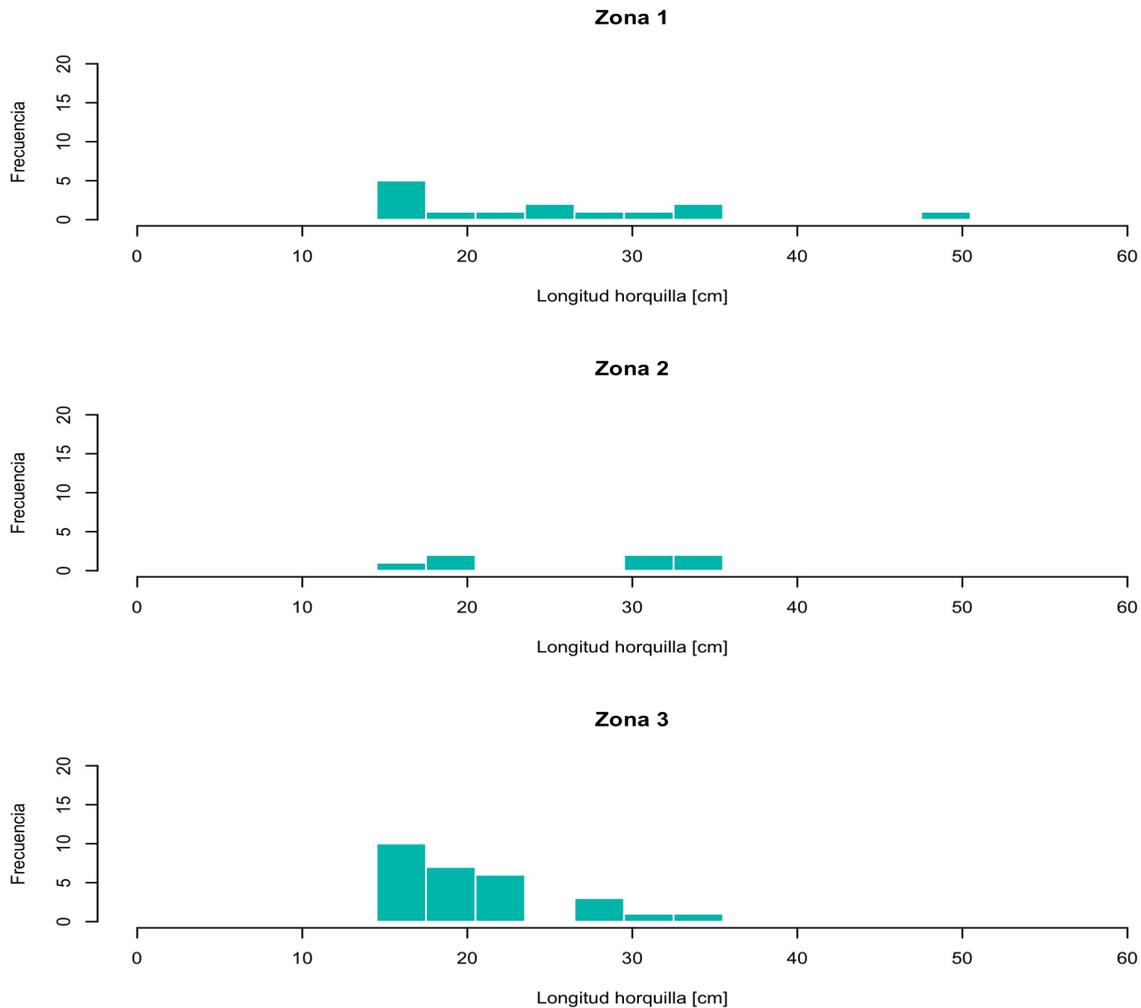


Figura 19: Estructura de tallas de trucha café capturadas con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2010.

3.3.3. Salmón coho

La estructura de tallas del salmón coho en el Fiordo Aysén en el año 2009 presenta tres grupos de peces claramente diferenciados (Figura 20). El primer grupo está conformado por peces pequeños, bajo los 20 cm de longitud horquilla (LH); el segundo grupo está conformado por peces entre los 30 y 43 cm y el tercero con peces sobre los 50 cm cuya talla modal se ubicó en torno a los 63 cm. Durante el año 2009 predominaron los ejemplares inmaduros o juveniles entre los 25 y 44 cm, con una no despreciable presencia de peces adultos.

En el año 2010 se observó una importante variación en la estructura de tallas del salmón coho presente en el Fiordo Aysén, dado por una predominancia de los juveniles bajo los 20 cm y una importante disminución de los ejemplares de tamaño medio, entre 30 a 45 cm y de los peces adultos mayores a 50 cm (Figura 20), lo cual parece estar asociada con

mayor certidumbre a muertes por causas naturales en estos individuos. La presencia de peces bajo los 20 cm no es fácil de explicar, y podrían tratarse de reclutas producidos por desoves de adultos que habrían alcanzado su libertad en años antes y o bien de ejemplares escapados desde centro de cultivo durante este año.

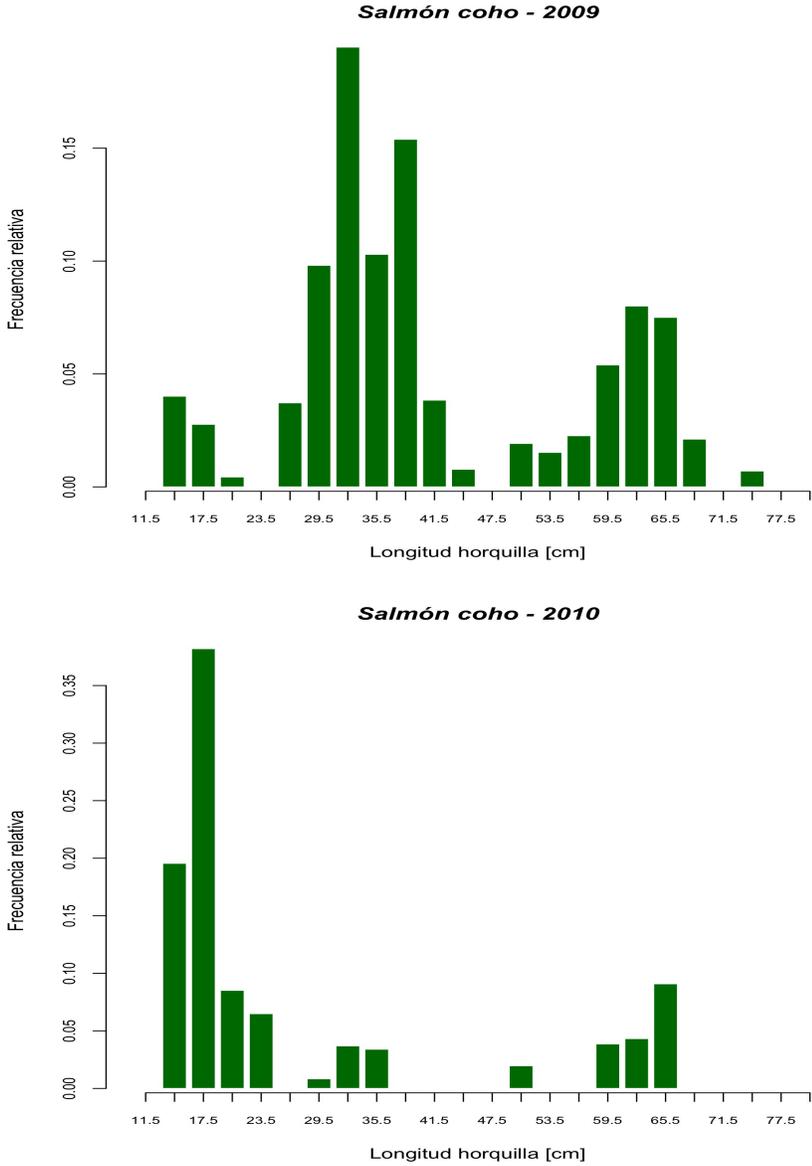


Figura 20: Estructura de tamaños del salmón coho capturado con redes de enmalle en el Fiordo Aysén, años 2009-2010.

i. Variación temporal de la composición de tallas

A nivel mensual se aprecia que peces adultos fueron encontrados en mayo, noviembre y diciembre principalmente. En cambio los peces menores a 20 cm LH fueron detectado en noviembre y diciembre. Juveniles sobre los 25 cm hasta los 43 cm fueron detectados en invierno (mayo, julio) (Figura 21). En el año 2010, la estructura de tamaños se caracterizó por la predominancia de ejemplares juveniles en torno a los 20 cm LH, sólo en el muestreo de enero hubo captura de individuos sobre los 60 cm. La presencia de ejemplares adultos de gran tamaño difiere de un año a otro en invierno, pero es más consistente durante primavera-verano, cuando se observa una mayor presencia en las capturas (Figura 22).

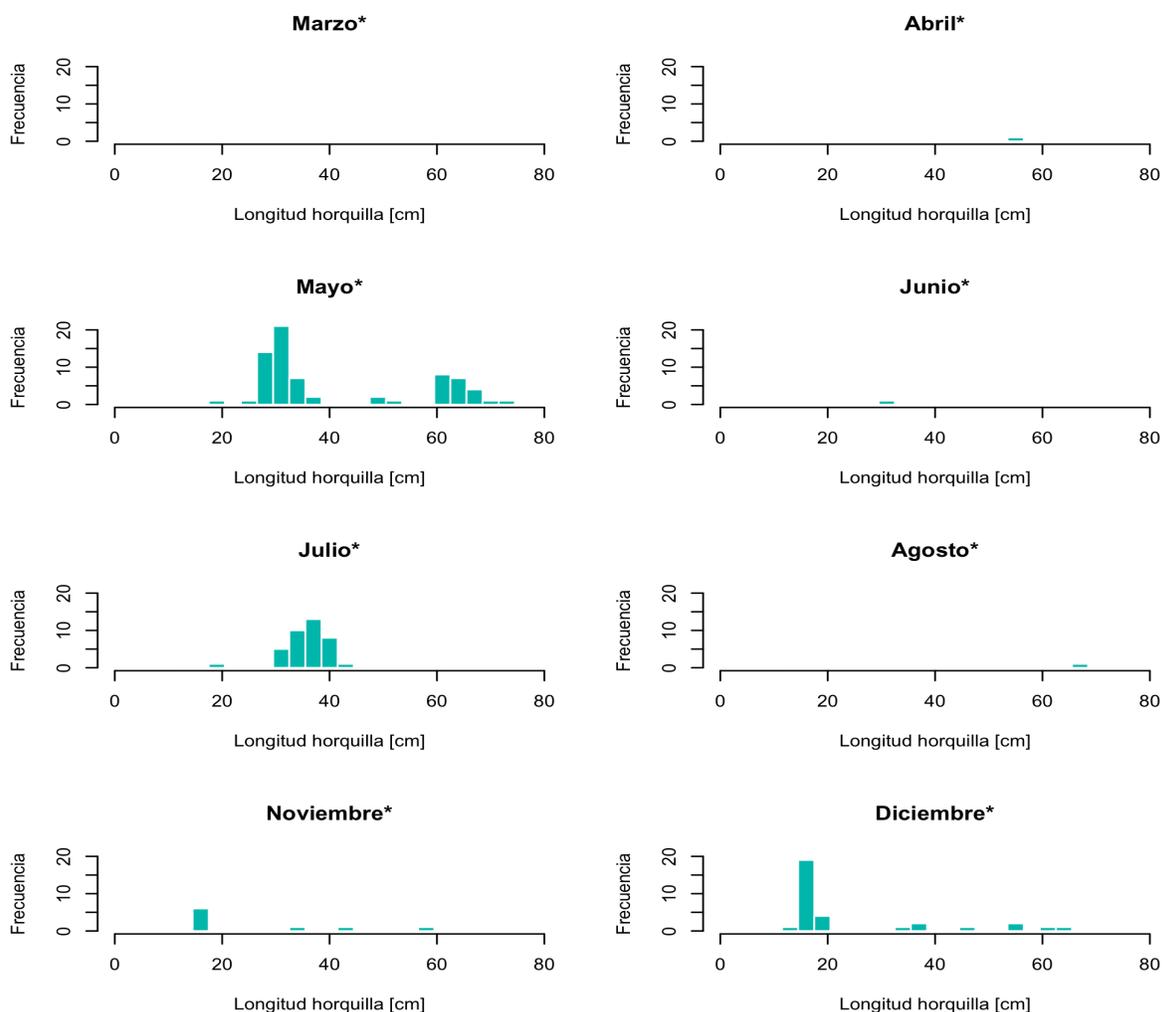


Figura 21: Estructura de tallas mensuales del salmón coho capturados con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2009.

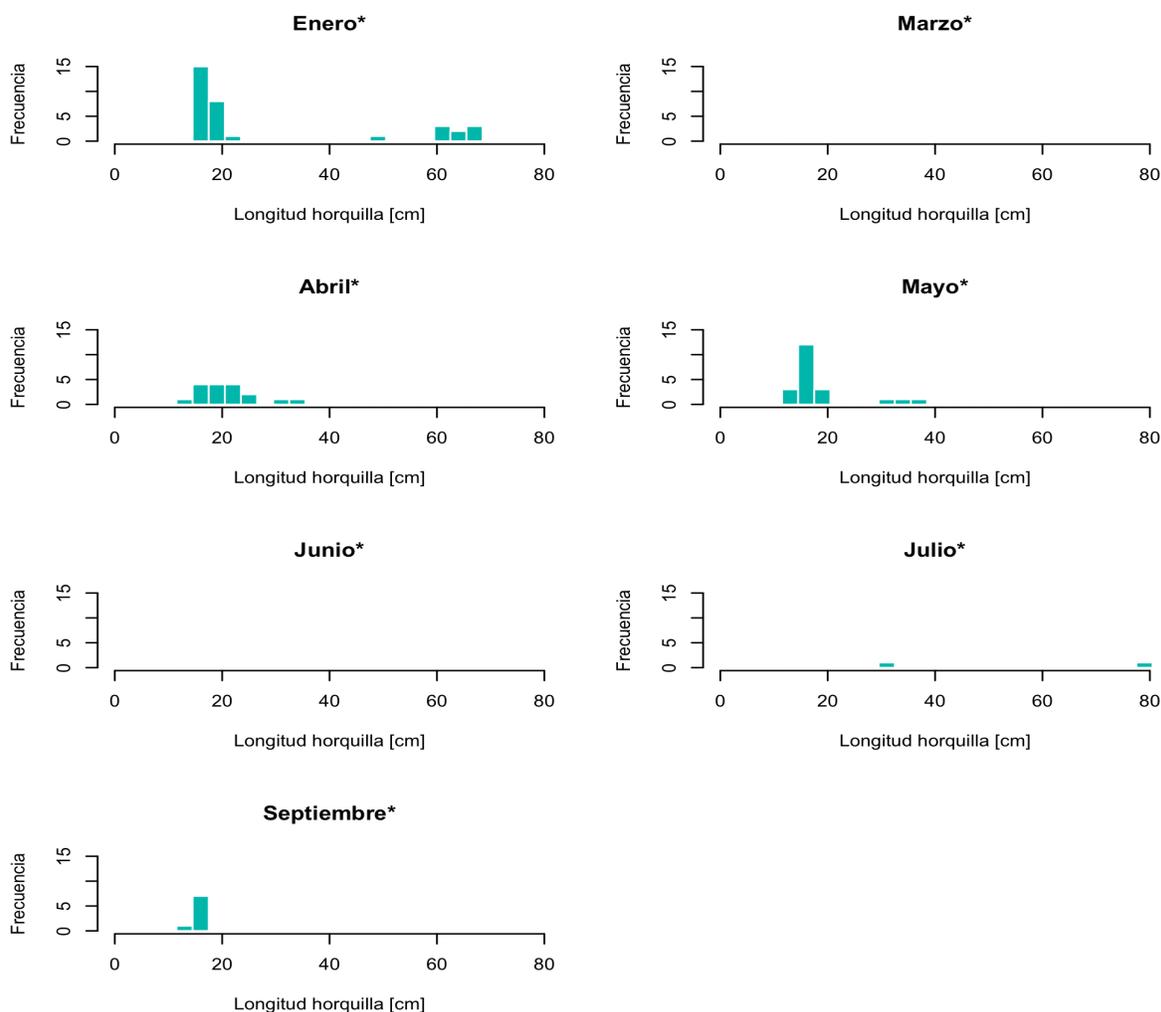


Figura 22: Estructura de tallas mensuales del salmón coho capturado con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2010.

ii. *Variación espacial de la composición de tallas*

A nivel espacial, se observó una variabilidad importante en las estructuras de tallas durante el año 2009 en las tres zonas de estudio (Figura 23). La zona 3, la más cercana a Puerto Chacabuco, fue la que presentó las mayores abundancias para los distintos tamaños y en especial para los individuos mayores a 60 cm. A medida que nos alejamos de Puerto Chacabuco los peces mayores a 60 cm disminuyen, para desaparecer completamente hacia la boca del Fiordo. En la zona media del Fiordo (zona 2) se observó una presencia importante de peces de tamaño mediano (30 a 40 cm LH) y también de peces menores a 20 cm. En la zona 1 concurren principalmente peces entre 30 a 40 cm, mientras que los menores a 20 cm y mayores a 50 cm son escasos.

Durante el año 2010, se mantuvo el patrón de una mayor talla en la zona 3, pero a diferencia del 2009, la fracción más abundante fue la de peces en torno a los 20 cm de LH (Figura 24). Los peces mayores a 60 cm mantuvieron su presencia pero en muy baja cantidad. La presencia de peces también disminuye en las otras dos zonas, tanto que en la zona 1 sólo hubo captura de peces menores a 20 cm en una cantidad muy reducida.

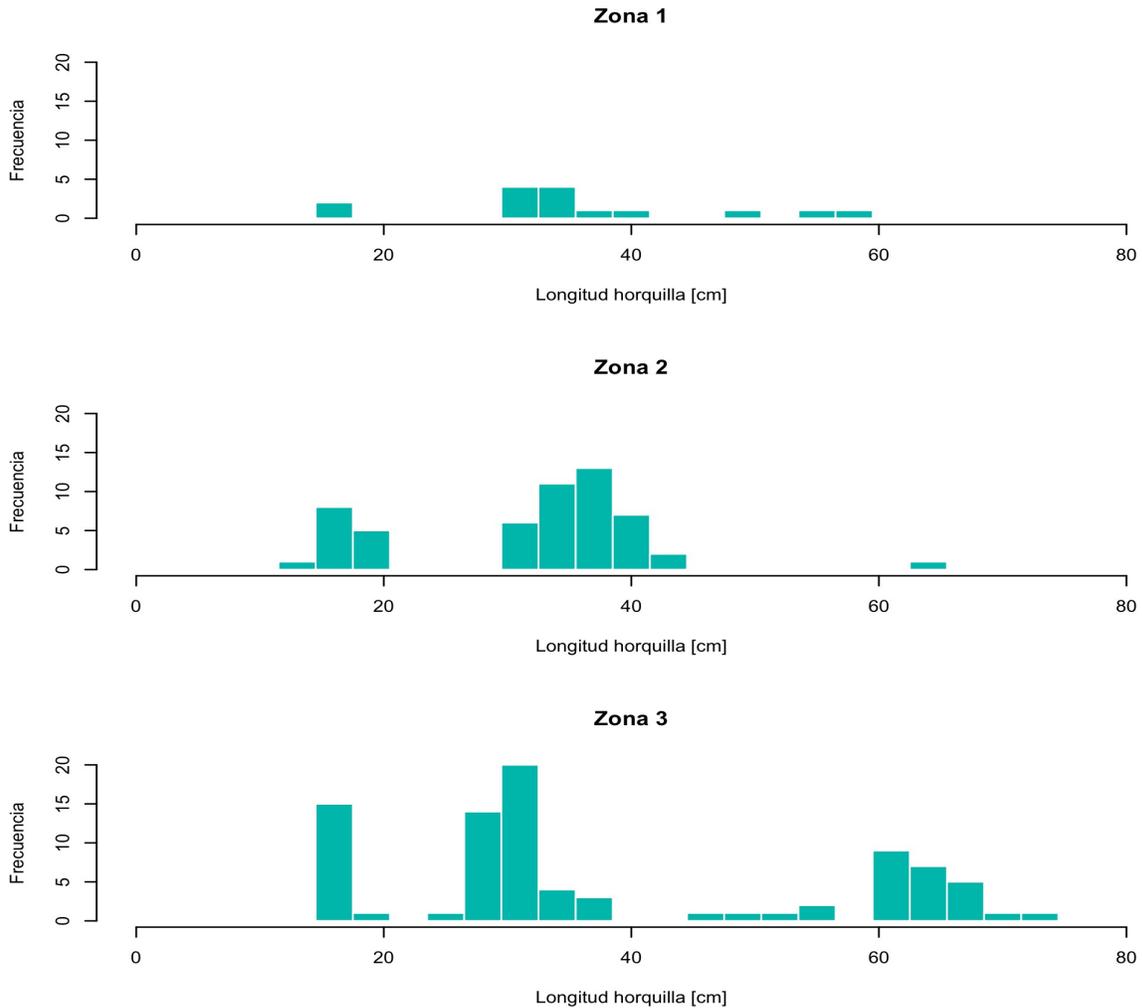


Figura 23: Estructura de tamaños del salmón coho capturados con redes de enmalle en las tres zonas de estudio del Fiordo Aysén durante el año 2009.

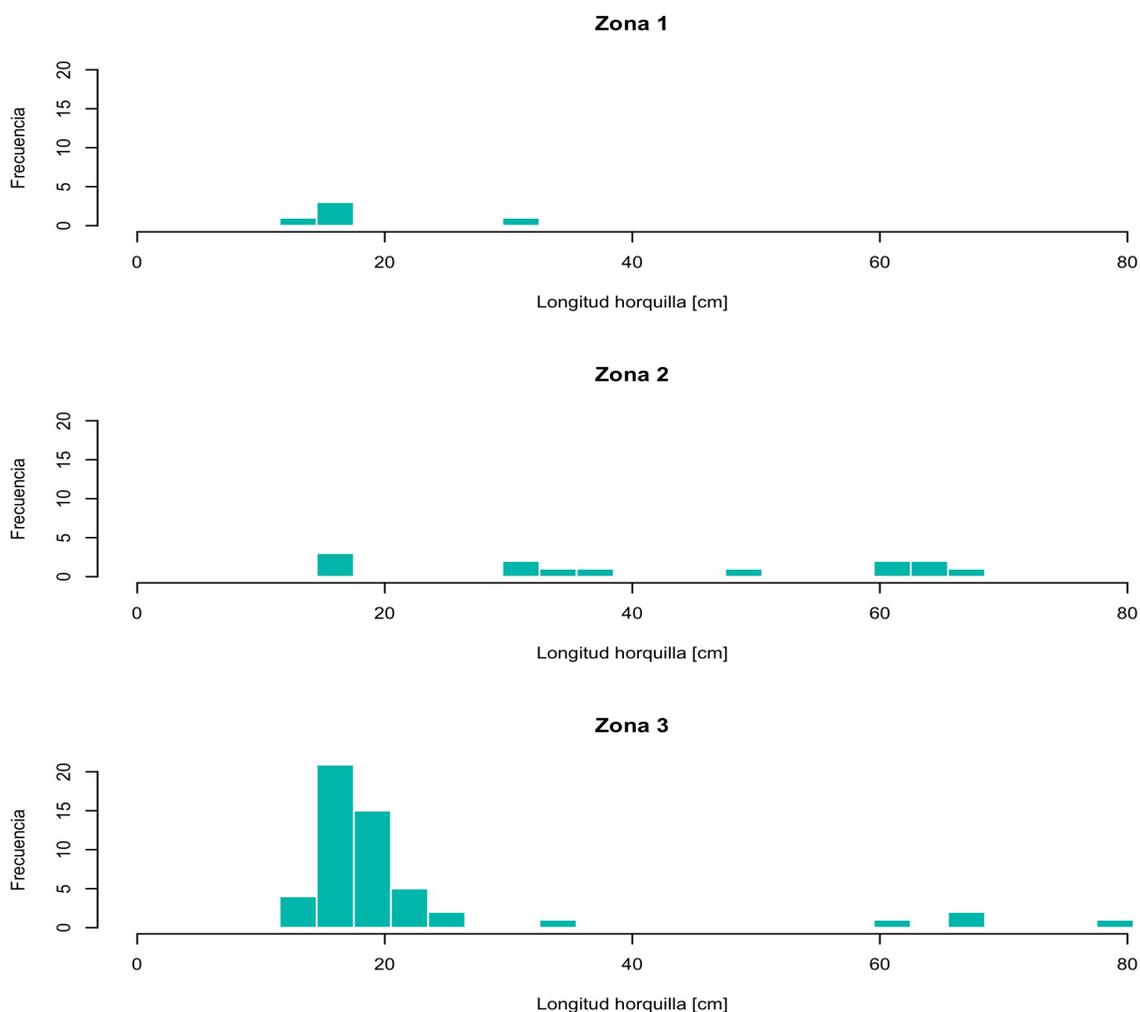


Figura 24: Estructura de tamaños del salmón coho capturados con redes de enmalle en las tres zonas de estudio del Fiordo Aysén durante el año 2010.

3.3.4. Trucha arcoiris

La trucha arcoiris presente en el año 2009 en el Fiordo Aysén mostró una composición de tamaños en un rango entre los 13,5 y 61,5 cm de longitud de horquilla. La estructura de este año presentó un grupo de peces pequeños bajo los 20 cm y un grupo de tamaño mayor sobre los 25 cm. Este último grupo exhibe una moda en torno a los 30 cm y otra en torno a los 50 cm (Figura 25).

En el año 2010, la estructura de talla de la trucha arcoiris se deteriora, presentando varias discontinuidades en un rango entre los 21,5 y 56,5 cm. Desaparecen los ejemplares bajo los 20 cm y los ejemplares de tallas mayores a 43,5 cm (Figura 25). Esta merma de los tamaños mayores puede haber sido causada tanto por muertes naturales, pero no se puede descartar a priori efectos de capturas dirigidas a este recurso (pesca), o ambas.

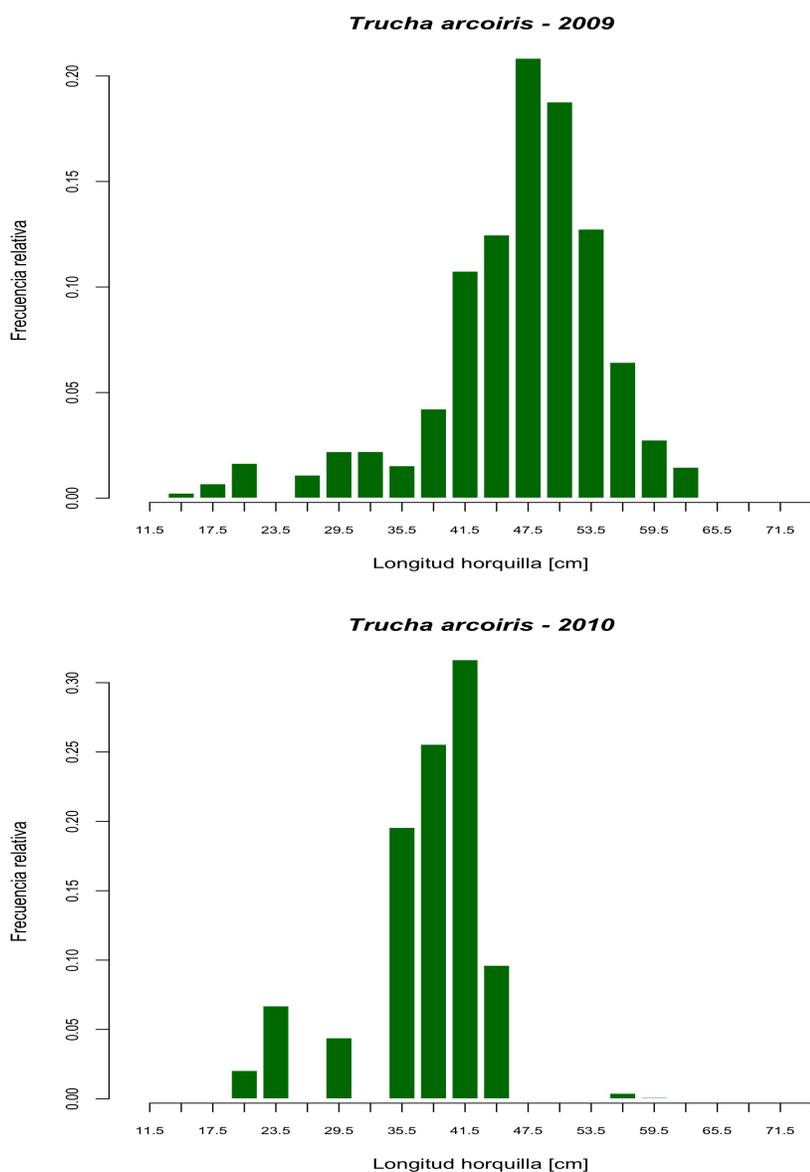


Figura 25: Estructura de tamaños de la trucha arcoiris capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén, años 2009 y 2010.

i. Variación temporal de la composición de tallas

En el año 2009 se observa una variabilidad importante en las estructuras de tamaño a nivel mensual de la trucha arcoiris en el Fiordo Aysén (Figura 26). En el mes de marzo, abril, junio julio hubo una muy baja presencia de esta especie en los muestreos, en tanto que en agosto y noviembre fue nula. Sólo en el mes de mayo y diciembre la presencia de ejemplares fue importante. En mayo la estructura de tamaños presentó dos grupos: el primero bajo los 30 cm LH y el segundo entre 37 y 63 cm, cuya moda se ubica en torno a

los 50 cm LH. Este segundo grupo correspondió a ejemplares adultos, si se tiene como referencia una L50% de 32 cm LH. En diciembre estos dos grupos también estuvieron presentes, sin embargo, el grupo de adultos, que también se manifestó levemente en abril julio, presentó una merma de los ejemplares sobre los 50 cm. Otra característica de la estructura de tallas de diciembre es la presencia de ejemplares pequeños en torno a los 20 cm de LH, los cuales no se detectaron en los meses anteriores .

En el año 2010, se detectó presencia de trucha arcoiris en los muestreos de enero, marzo, abril mayo y julio (Figura 27). Sólo en el mes de enero y julio es posible analizar la estructura de tamaños de este recurso presente en el Fiordo Aysén, ya que en los demás meses su presencia en los muestreos fue esporádica o nula. La estructura de estival, presenta un sólo grupo de adultos entre los 37 y 47 cm LH. La presencia de juveniles y adultos sobre los 50 cm es nula. En julio hay presencia aunque bajas de juveniles entre los 20 y 30 cm LH (Figura 27).

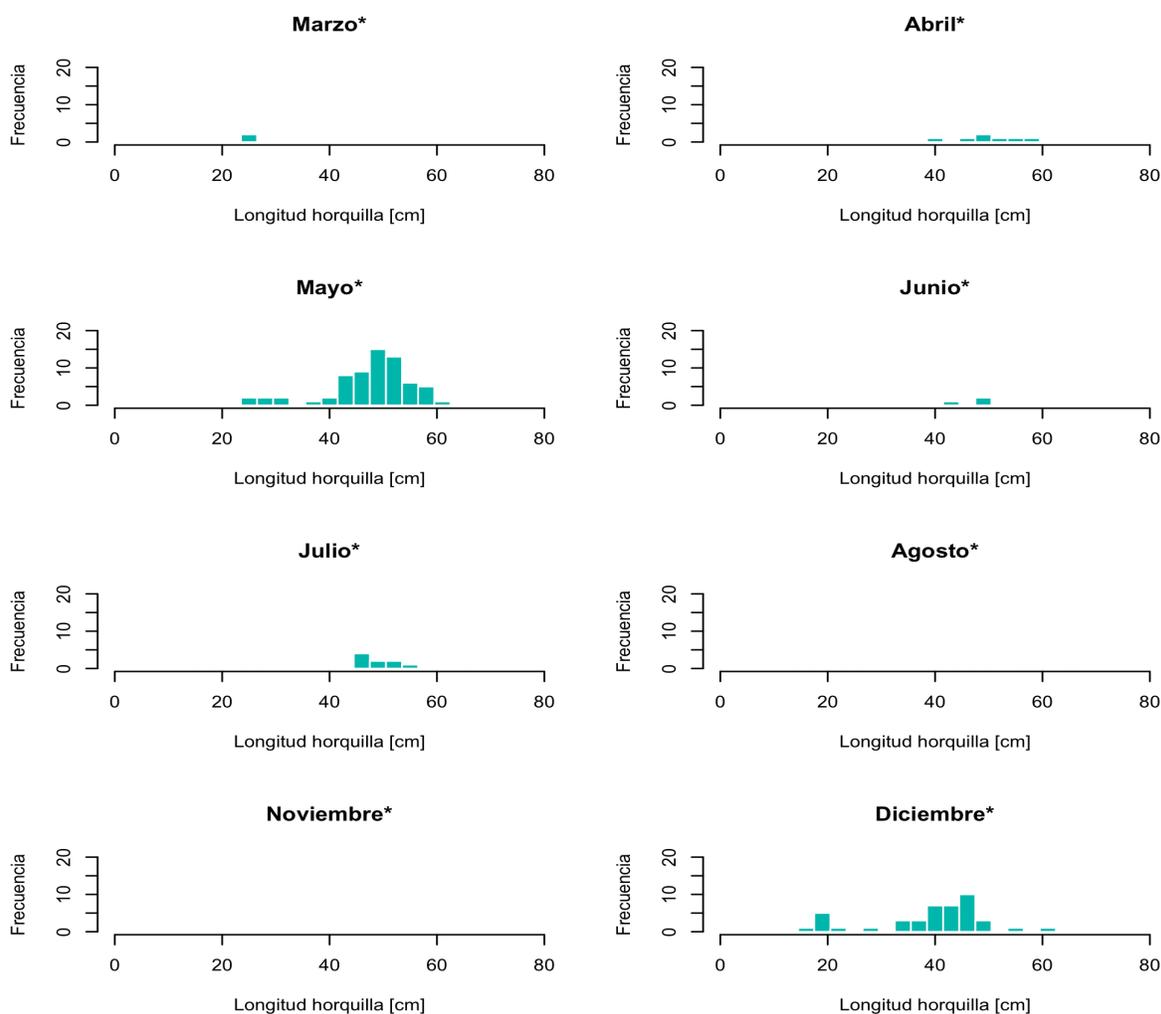


Figura 26: Estructura de tallas mensual de trucha arcoiris capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2009.

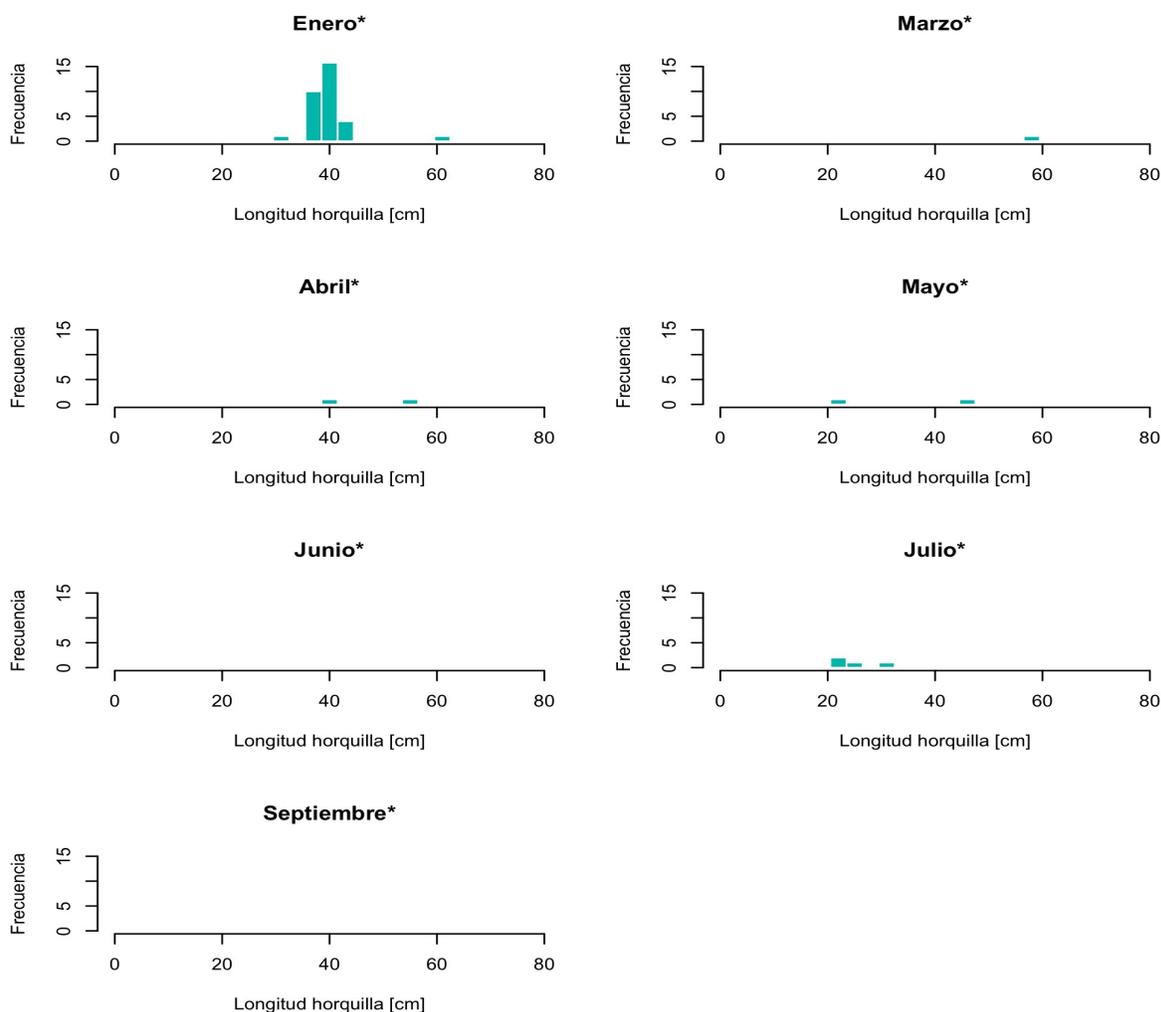


Figura 27: Estructura de tallas mensual de trucha arcoiris capturadas con redes de enmalle en el Fiordo Aysén durante el año 2010

ii. *Variación espacial de la composición de tallas*

Durante el año 2009, la mayor presencia de ejemplares de trucha arcoiris en los muestreos ocurrió en la zona 3, es decir la más cercana a Puerto Chacabuco. A medida que nos acercamos a la boca del Fiordo su presencia disminuye y las estructuras de tallas se hace menos informativa. En la zona 1 y 2 la estructura de tallas está caracterizada por la presencia de un grupo y algunos ejemplares esporádicos en torno a los 20 cm LH (Figura 28). En la zona 1 y 2, el grupo antes señalado, se ubica principalmente entre los 40 y 50 cm LH. En la zona 3, la estructura de tamaños es continua entre los 26 y 63 cm, con una componente fuerte entre los 40 y 60 cm de LH asociada principalmente a los muestreos de mayo y diciembre.

En el 2010, las zonas 1 y 2 mantuvieron la presencia de un grupo de peces, pero ahora, en torno a los 40 cm LH y la estructura de tamaños de la zona 3 se presentó más deteriorada, probablemente por la falta de muestreos del mes de primavera verano (Figura 29).

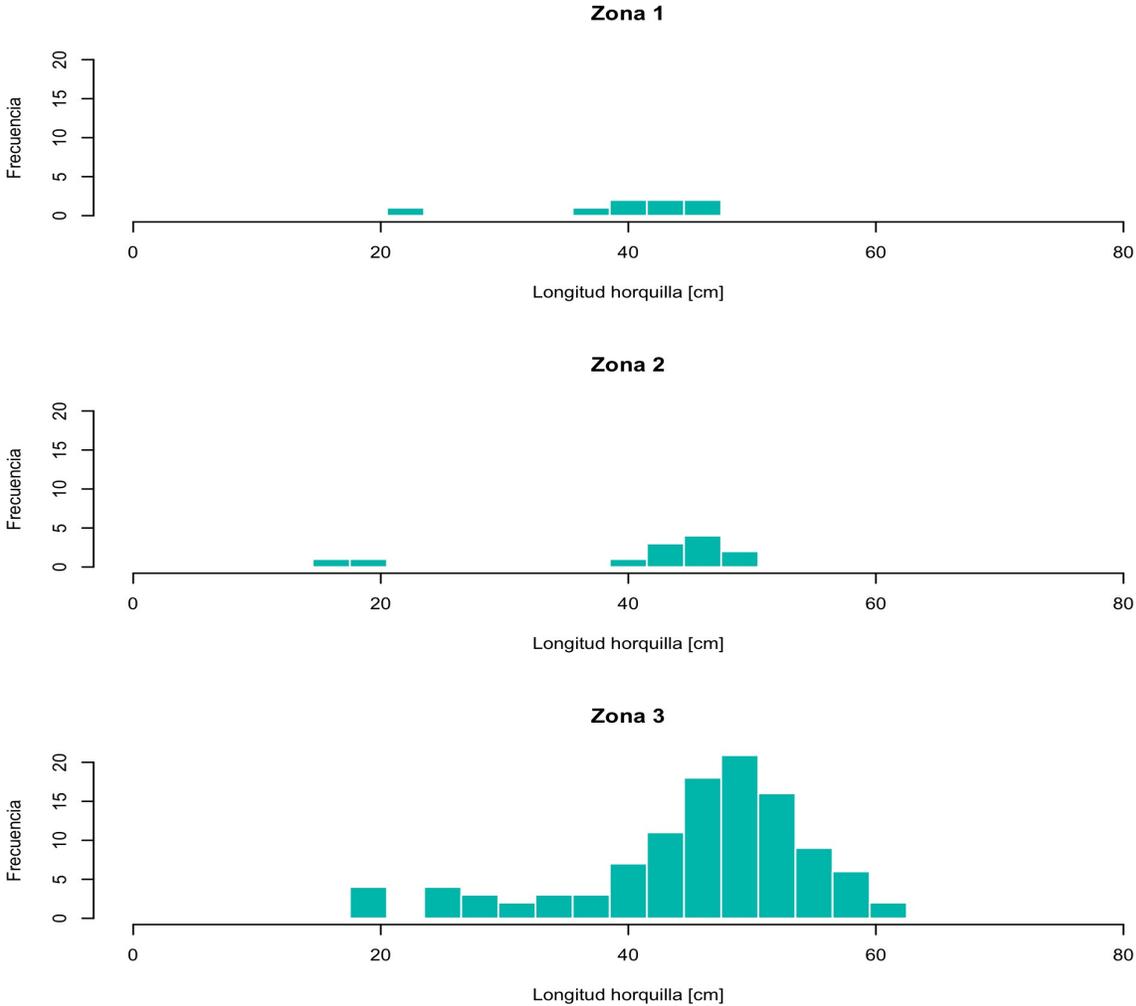


Figura 28: Estructura de tallas de trucha arcoiris capturadas con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2009.

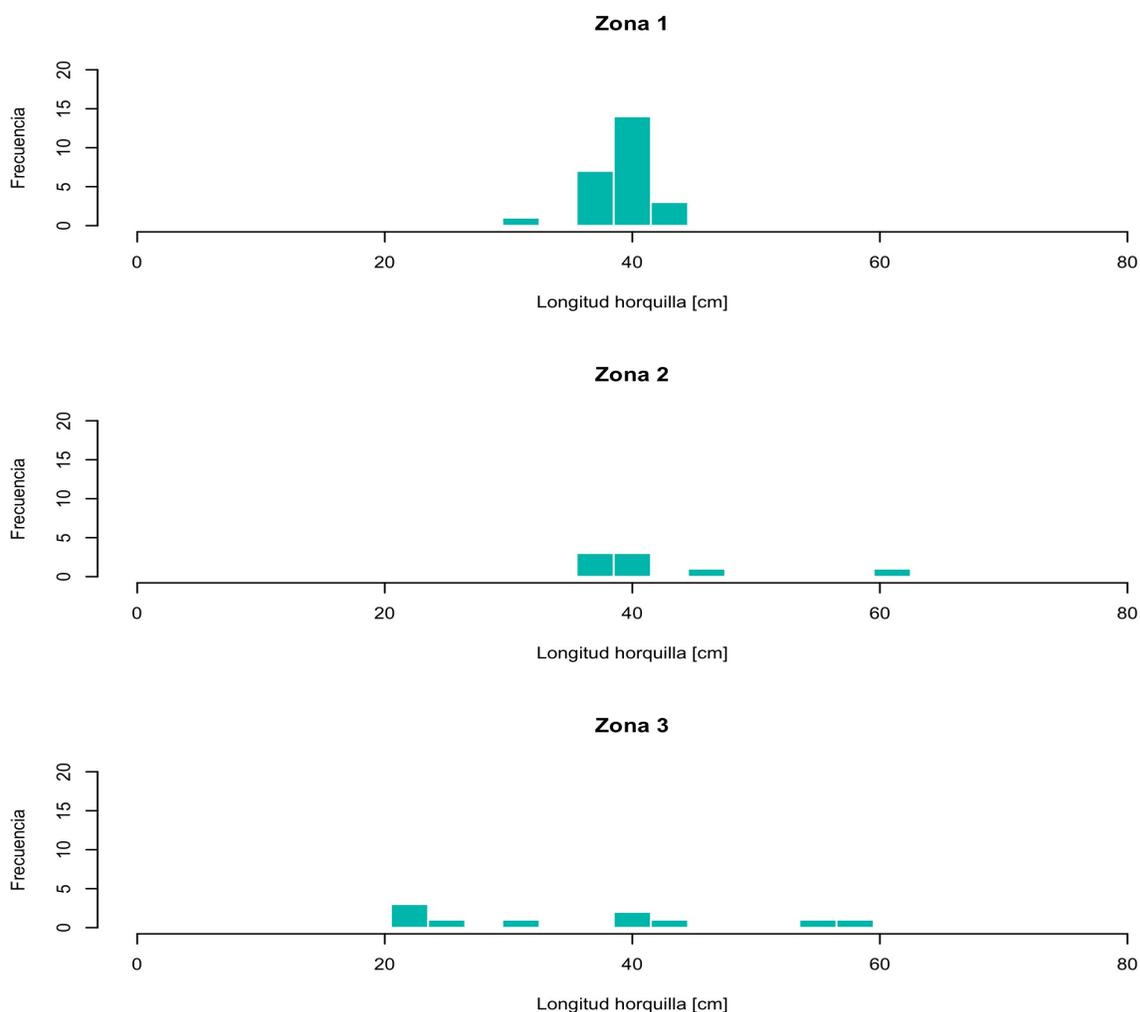


Figura 29: Estructura de tallas de trucha arcoiris capturadas con redes de enmalle en las zonas 1, 2 y 3 del Fiordo Aysén durante el año 2010.

3.3.5. Salmón del Atlántico

El bajo número de salmón del Atlántico obtenido a partir de las captura durante el periodo de estudio (n = 6) no permitió construir una estructura de tallas para esta especie.

3.4. Relación Talla-peso, Factor de condición e IGS

3.4.1. Talla - peso

La Figura 30 muestra las curvas de la relación entre la talla y el peso de las especies salmón coho, salmón chinook, salmón del Atlántico, trucha arcoiris y trucha café. En el caso del salmón del Atlántico, el bajo número de peces capturados durante los eventos de muestreo no permitieron calcular una curva representativa entre la talla y el peso para este recurso.

Todas las relaciones, excepto la antes indicada, presentan un buen número de datos y exhiben una alta correlación, de manera que el test F indica una alta significancia estadística (Tabla 17). Los salmones coho y chinook y la trucha café en el rango de tamaños analizado presentaron una tendencia a la isometría (valores diferentes pero muy cercanos a 3), en cambio la trucha arcoiris presentó una alometría más pronunciada.

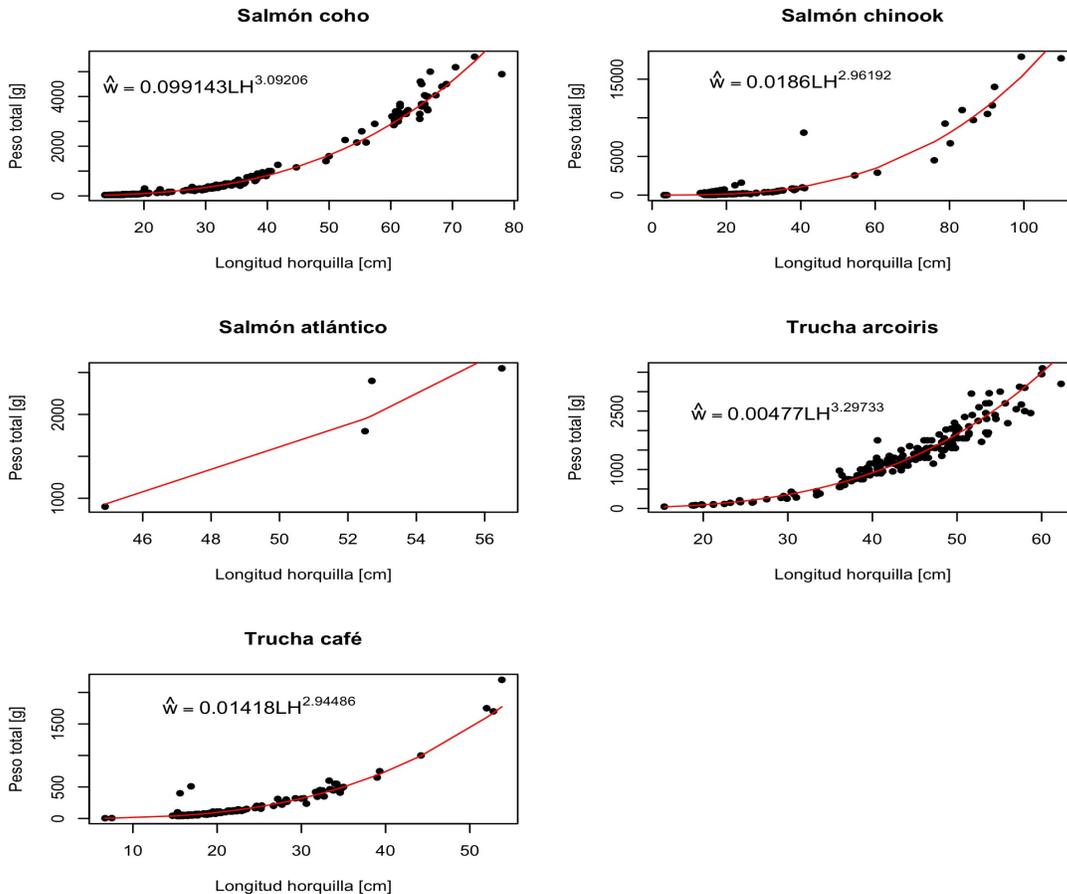


Figura 30: Relación talla-peso de los salmónidos presentes en el Fiordo Aysén entre marzo del 2009 y septiembre de 2010.

Tabla 17. Valores de los parámetros de la relación talla-peso, intervalos de confianza y nivel de significancia para los salmónidos presentes en el Fiordo Aysén, 2009 – 2010. $p(>t)$ corresponde a la probabilidad (test de t) de que el valor del parámetro sea igual a cero.

Especie	a	b	IC 95% (a)		IC 95% (b)		gl	F	$p(>t)$
			inf	sup	inf	sup			
Salmón chinook	0,0186	2,96	0,0101	0,0342	2,76	3,16	1540	8690	<0,0001
Trucha café	0,0142	2,94	0,0090	0,0224	2,80	3,09	1440	15300	<0,0001
Salmón coho	0,0914	3,09	0,0080	0,0105	3,05	3,13	2370	23820	<0,0001
Trucha arcoiris	0,0048	3,30	0,0034	0,0067	3,21	3,39	1630	51250	<0,0001

3.4.2. Factor de condición e IGS

El salmón coho y la trucha arcoiris, presentan un factor de condición de Le Cren bajo y plano a través de los meses en el Fiordo Aysén (Figura 31) donde trucha arcoiris presenta una baja dispersión de los datos. En cambio la trucha café y el salmón chinook presentan más variabilidad con un incremento en el periodo primavera y verano, respectivamente; asociado al proceso reproductivo que ocurre en estas dos especies de vida libre. Ambos recursos presentan un aumento sorpresivo del Factor de condición en julio, el cual no tiene una explicación satisfactoria de su ocurrencia.

El IGS aporta poca información sobre el proceso reproductivo en estas especies, principalmente por lo corto y discontinuo que se presenta la serie en todas las especies (Figura 32) y donde los datos se encuentran bastante dispersos para todas las especies y temporadas, producto principalmente al bajo número de ejemplares capturados.

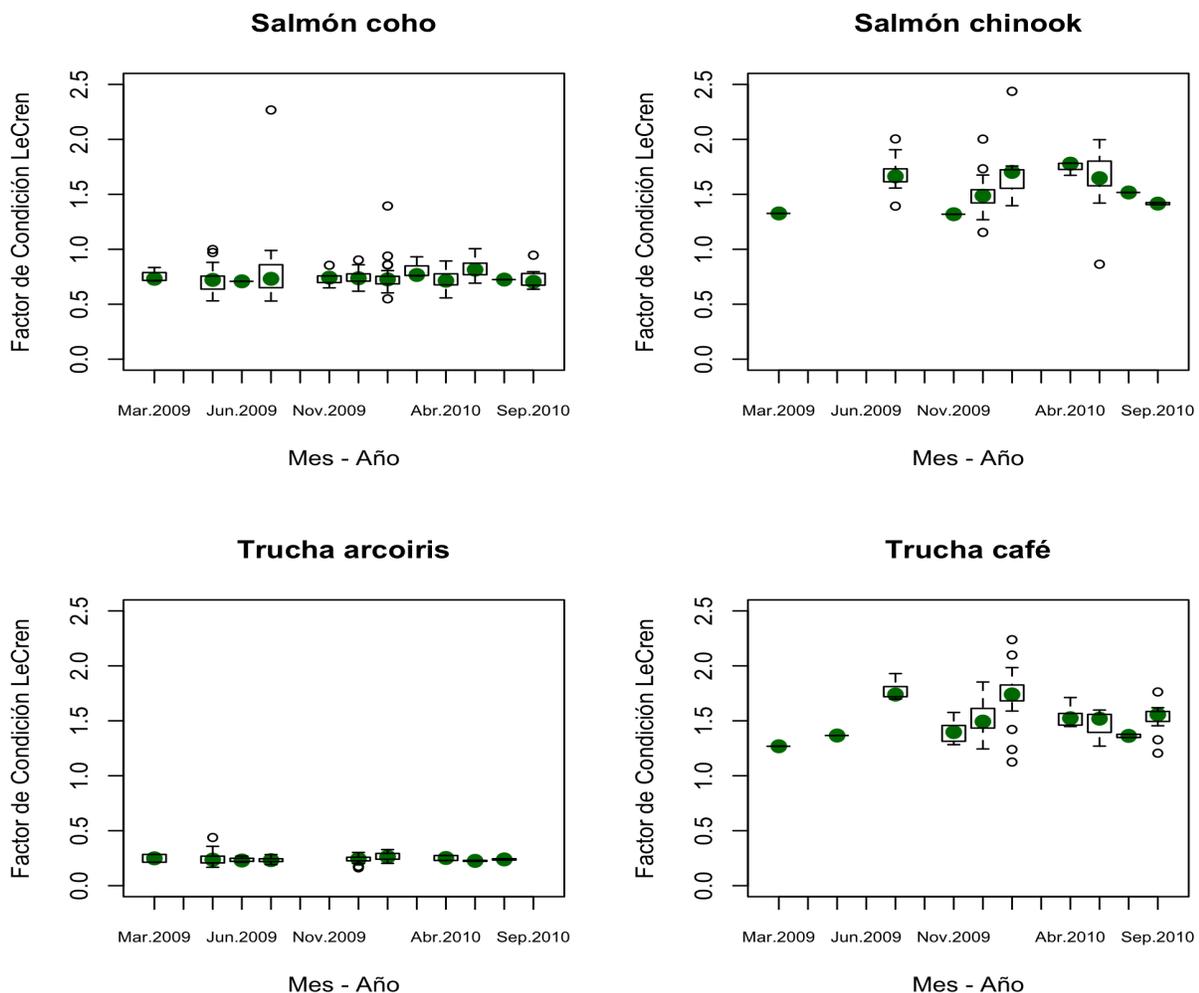


Figura 31: Factor de condición de Le Cren de los salmónidos presentes en el Fiordo Aysén entre marzo del 2009 y septiembre de 2010.

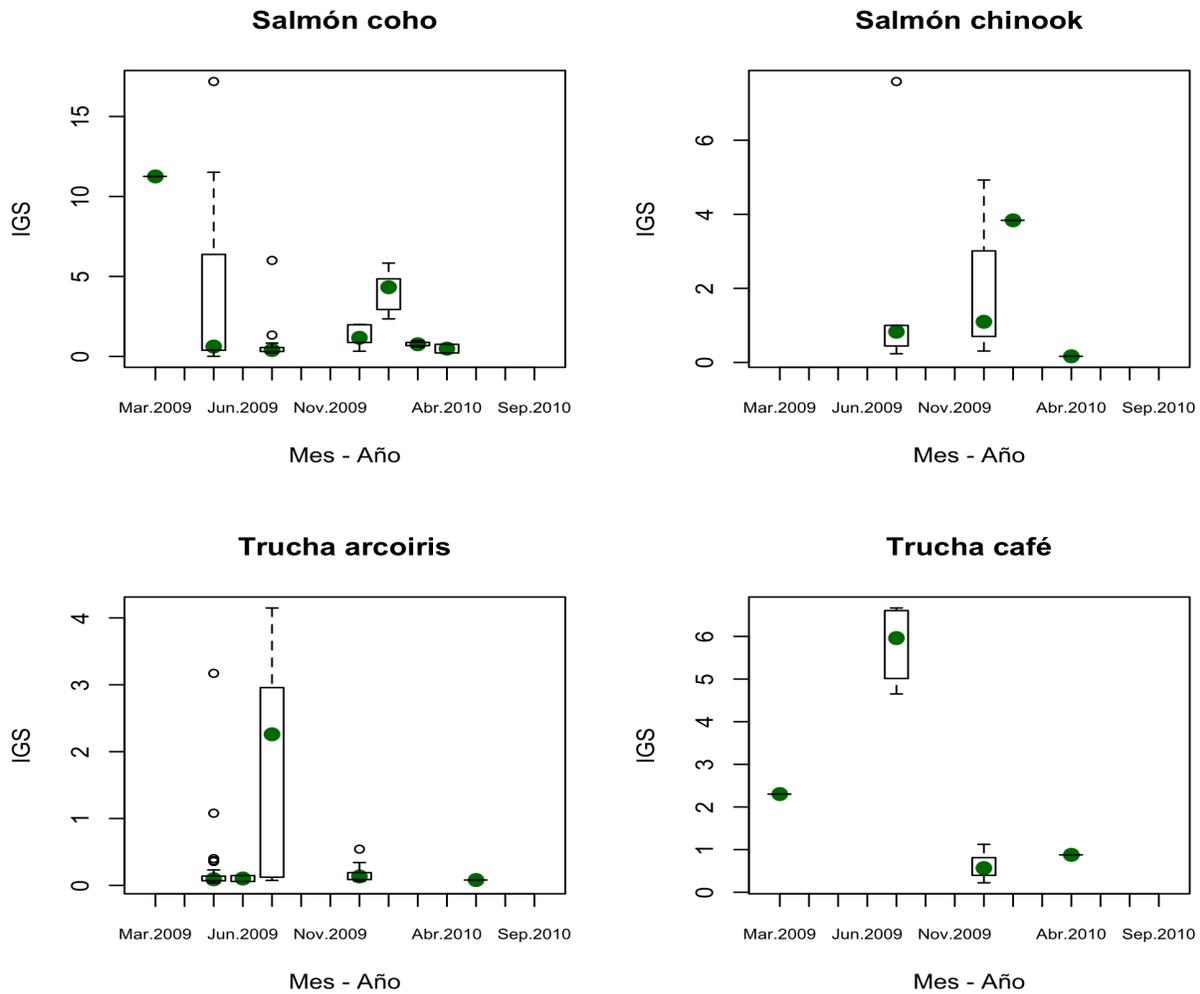


Figura 32: Índice gonadosomático de los salmónidos presentes en el Fiordo Aysén entre marzo del 2009 y septiembre de 2010.

3.5. Proporción sexual

La proporción sexual de salmón coho, salmón chinook, trucha arcoiris y trucha café presentes en el Fiordo Aysén durante el periodo de análisis muestra en términos generales un predominio de hembras a través de los meses (Figura 33), aún cuando el tamaño de muestra para algunos meses es insuficiente para sustentar esta afirmación (Tabla 2). Esta situación ocurre de manera evidente tanto en las especies de vida libre como salmón chinook y trucha café, como en las especies de cultivo.

El análisis de la proporción de sexos en las zonas de estudio al interior del Fiordo Aysén, muestran de manera tangible el predominio numérico de las hembras sobre los machos (Figura 34). Este aspecto a primera vista, sin considerar la componente estructural (edades, adultos y juveniles) parece ser positivo, principalmente en aquellas especies de vida libre, al ser las hembras las consignatarias del potencial reproductivo.

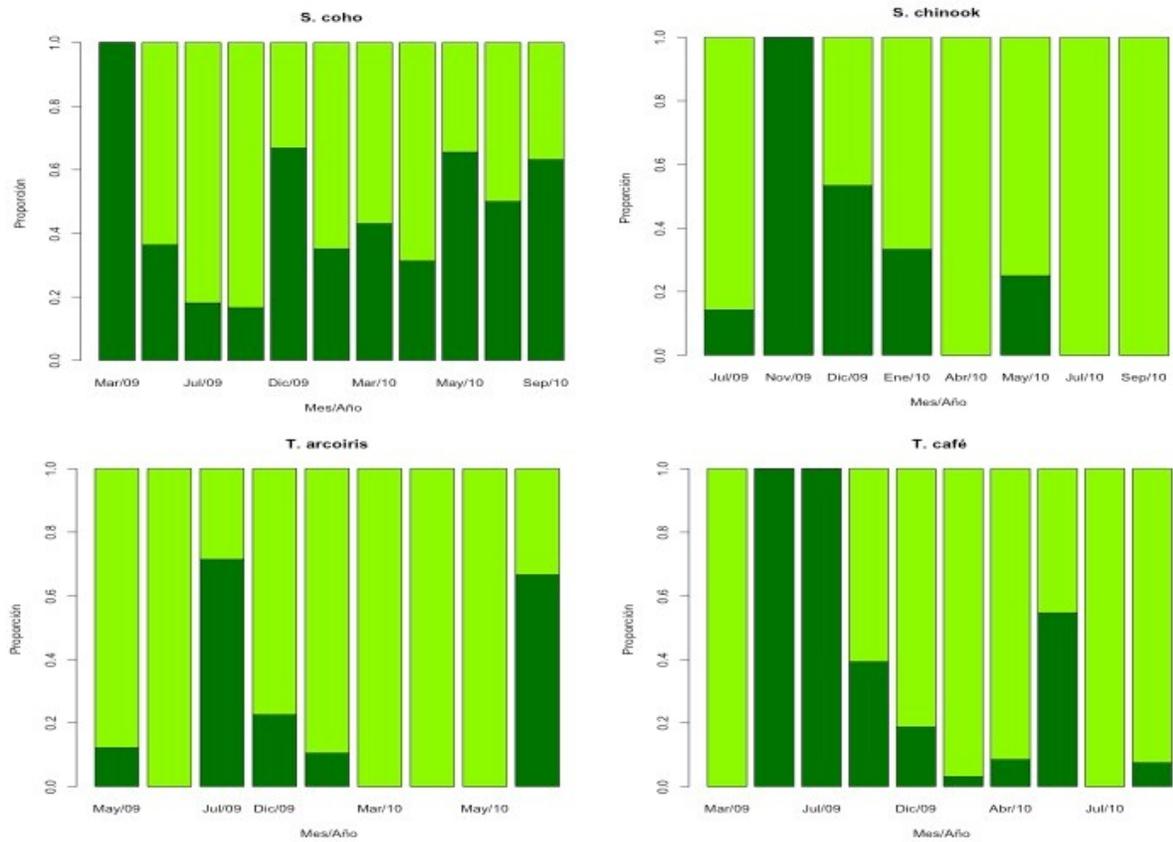


Figura 33: Frecuencia mensual de sexos por especie de salmónidos presentes en el Fiordo Aysén entre marzo del 2009 y septiembre de 2010 (color claro hembras, oscuro machos).

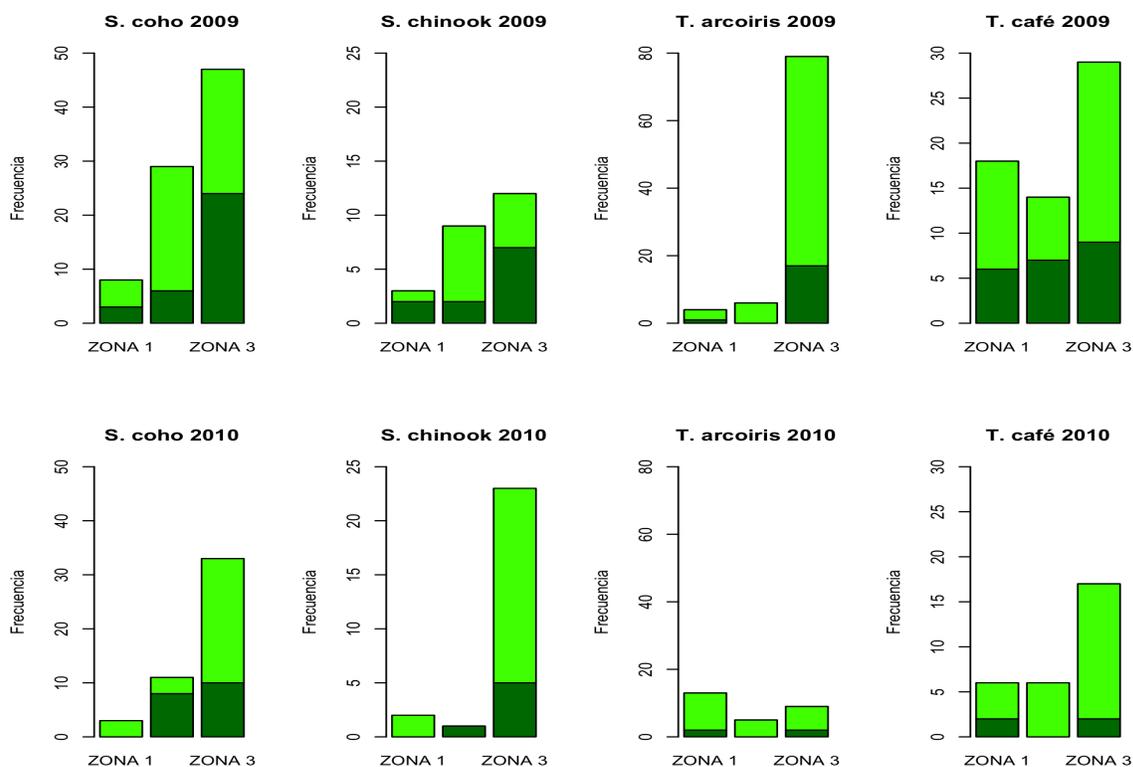


Figura 34: Frecuencia de sexos por especie de salmónidos presentes en las zonas de estudio del Fiordo Aysén en los años 2009 y 2010 (color claro hembras, oscuro machos).

Tabla 18. Tamaño de muestra para el análisis de la proporción sexual de los salmónidos en el Fiordo Aysén entre marzo de 2009 y septiembre de 2010.

Mes	S. Coho		S.Chinook		T. arcoiris		T. café	
	2009	2010	2009	2010	2009	2010	2009	2010
Enero		20		3		19		12
Febrero								
Marzo	1	3				1	1	
Abril		9		1		2		7
Mayo	44	11		10	49	2	1	2
Junio					2			
Julio	24	2	7	1	7	3	5	1
Agosto		2						
Septiembre				1				7
Octubre								
Noviembre	4		2				12	
Diciembre	11		15		31		42	

3.6. Edad y crecimiento

3.6.1. Caracterización de escamas y otolitos de peces de edad conocida

El análisis de escamas y otolitos pertenecientes a peces de edad conocida permitió observar un patrón que sirvió de guía para aquellas muestras extraídas de peces de vida libre. En la figura 35 podemos observar a la izquierda una escama de un pez de 2 años de edad, es un salmón coho sacrificado inmediatamente después del desove en el mes de julio, se observan 3 inviernos, la transición de agua dulce al mar y la madurez reproductiva del pez en el borde de la escama. En la figura 35 a la derecha se observa un otolito de salmón coho también de 2 años de edad, perteneció a un adulto sacrificado después del desove en el mes de mayo, en la imagen se observan 3 inviernos y la transición de agua dulce a agua salada.

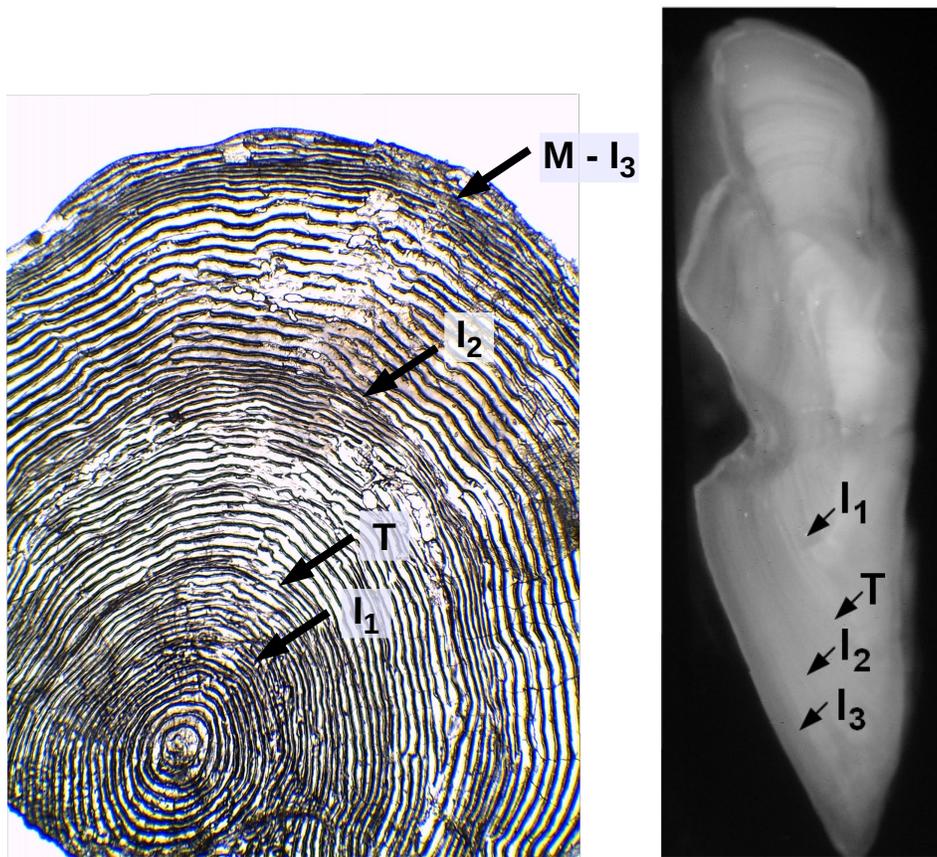


Figura 35: Izquierda: escama de salmón coho de edad conocida, adulto de 2 años sacrificado luego del desove en julio .Derecha: otolito de coho de edad conocida sacrificado luego del desove en mayo (I_{1,2,3}: inviernos 1, 2 y 3 respectivamente; T: transición al mar; M: madurez reproductiva)

3.6.2. Análisis de precisión

El análisis de precisión entre lectores efectuado dentro del Laboratorio de Biología Marina Cuantitativa mostró importantes diferencias entre métodos y entre especies. En todas las especies, la lectura de otolitos mostró coeficientes de variación e índices de precisión sustancialmente mayores que los métodos basados en la lectura de escamas y en el análisis integrado de escamas y otolitos (Tabla 19). En todas las especies, salvo salmón coho, la lectura integrada arrojó menores coeficientes de variación que la lectura de escamas, pasando a ser el método más preciso de cuantificación de annuli bajo las condiciones de este estudio.

La especie que presentó mayores dificultades en su lectura fue trucha café, con coeficientes de variación por sobre 16%, independientemente de la técnica utilizada. La especie para la que se alcanzó mayores niveles de precisión fue salmón coho, para el que la lectura de escamas arrojó un coeficiente de variación de sólo 5,8% (Tabla 19).

El análisis de precisión entre laboratorios se presentará en el informe final, a fin de incorporar los resultados aún no enviados por la Dra. Jessica Miller (Universidad de Oregon).

Tabla 19: Coeficiente de variación e índice de precisión (en paréntesis) por especie y global correspondientes a la cuantificación del número de annuli a través de métodos basados en la lectura de otolitos, de escamas y de la integración de ambas técnicas.

		Otolitos	Escamas	Integrado
Intra-laboratorio - BIMAC	Salmón chinook	15,6 (11,0)	13,1 (9,7)	18,9 (13,4)
	Trucha café	34,0 (21,8)	33,0 (23,3)	13,8 (9,8)
	Salmón coho	35,2 (24,7)	9,8 (6,6)	11,2 (7,9)
	Trucha arcoiris	42,9 (28,9)	15,7 (11,1)	14,1 (10,0)
	Global	32,4 (22,1)	14,5(10,2)	11,1 (7,9)
Inter-laboratorios - BIMAC - Jessica Miller	Global	60,6 (42,8)	14,8 (10,5)	14,0 (9,9)

3.6.3. Modelos de crecimiento

i. Salmón chinook

Las muestras de otolitos y escamas de salmón chinook indicaron la presencia de al menos dos ecotipos distintos, diferenciados por el tiempo de residencia juvenil en agua dulce. Los tipos observados correspondieron a los descritos en la literatura del hemisferio norte como “oceánico” y “fluvial”, donde los primeros mostraron evidencia de haber emigrado antes de vivir su primer invierno y los segundos con posterioridad a éste. De los 36 individuos clasificados, un 78% correspondió al ecotipo fluvial y un 22% al oceánico. Otros 10 individuos no pudieron ser clasificados con certeza.

De los tres modelos de crecimiento evaluados, el modelo de Schnute fue el que presentó el mejor ajuste (menor AIC, Tabla 20), seguido por los modelos de Gompertz y von Bertalanffy. Dado el bajo número de muestras correspondientes al ecotipo oceánico, los modelos de crecimiento fueron ajustados combinando todas las muestras disponibles e ignorando, por lo tanto, las probables diferencias entre ecotipos (Figura 36).

ii. *Trucha café*

Las muestras analizadas de escamas y otolitos de trucha café presentaron un rango de edades estimadas entre 1 y 4 años, correspondientes a individuos de tallas (LH) entre 15,5 y 48,9 cm. El modelo de crecimiento que presentó el mejor ajuste (Figura 37) correspondió al modelo de Schnute, seguido por los de Gompertz y von Bertalanffy, que fueron similarmente informativos (Tabla 21).

Tabla 20: Parámetros de los modelos de crecimiento individual ajustados a la información de edad y longitud horquilla obtenida para salmón chinook en el Fiordo Aysén (2009-2010). AIC: criterio de información de Akaike. n= 40 observaciones.

Modelo	Parámetro	Valor estimado	EE	AIC
Von Bertalanffy	L_{∞}	120.00	0.118	863.5
	K	0.31	0.015	
	t_0	0.88	0.018	
Gompertz	L_{∞}	95.17	0.036	847.2
	g_t	0.80	0.142	
	t_0	2.00	0.037	
Schnute (4 parámetros)	a	8.15	0.038	767.6
	b	-9.25	0.057	
	L_1	9.18	0.058	
	L_4	92.26	0.018	

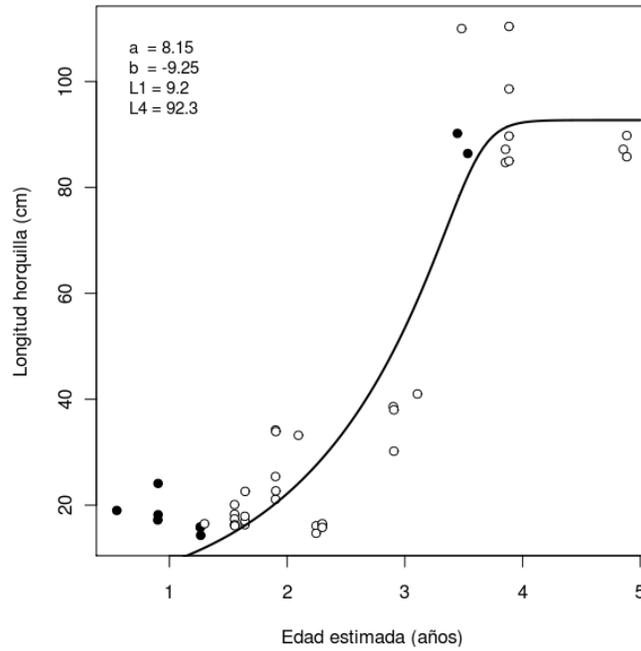


Figura 36: Modelo de crecimiento de Schnute, seleccionado (menor AIC) para representar la relación entre edad y talla de salmón chinook observada en el Fiordo Aysen, 2009-2010. Círculos negros identifican muestras clasificadas como ecotipo oceánico.

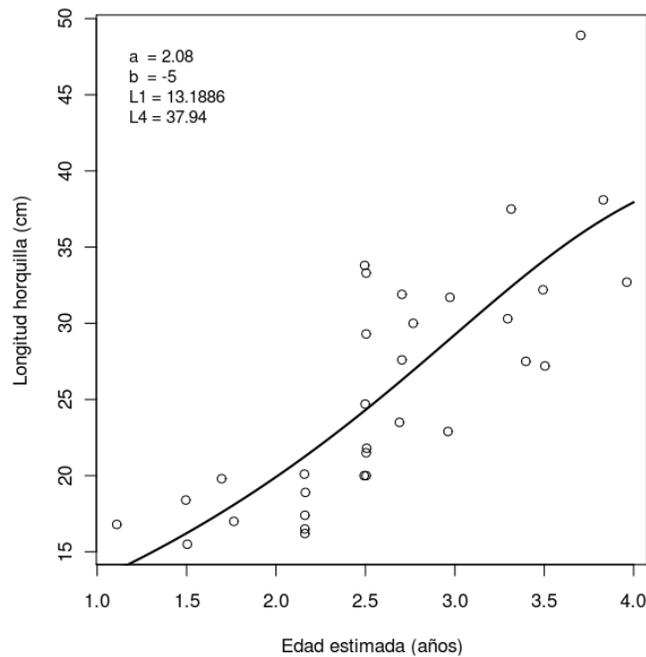


Figura 37: Modelo de crecimiento de Schnute, seleccionado (criterio de información de Akaike) para representar la relación entre edad y talla de trucha café observada en el Fiordo Aysén, 2009-2010.

Tabla 21: Parámetros de los modelos de crecimiento individual ajustados a la información de edad y longitud de horquilla obtenida para trucha café en el Fiordo Aysén (2009-2010). AIC: criterio de información de Akaike. n= 34 observaciones.

Modelo	Parámetro	Valor estimado	EE	AIC
Von Bertalanffy	L_{∞}	97.525	0.4979	432,1
	K	0.121	0.1863	
	t0	0.067	0.0461	
Gompertz	L_{∞}	47.070	0.1456	432,8
	g_t	0.582	0.1947	
	t0	1.689	0.1114	
Schnute (4 parámetros)	a	2.078	0.0261	430,9
	b	-4.977	0.2821	
	L_1	13.177	0.0959	
	L_4	37.919	0.0521	

iii. *Salmón coho*

El análisis de edad y crecimiento evidenció una gran disparidad de tallas dentro de edades, reflejando la existencia de un grupo principal y de al menos un grupo secundario (Figura 38). la existencia de dos grupos fue consistencia con las diferencias observadas en escamas y otolitos respecto del número de inviernos vividos en agua dulce durante la etapa juvenil de los especímenes muestreados. Mientras que la gran mayoría (88%) de los peces presentó evidencias de traslado o migración al mar antes de su primer invierno (“S0”), un 12 % de ellos presentó evidencia de haber pasado su primer invierno en agua dulce (“S1”). Dado el reducido tamaño muestral del grupo S1, los modelos de crecimiento fueron ajustados considerando sólo el grupo S0. Al igual que en todos los otros salmónidos estudiados, el modelo de Schnute presentó el mejor ajuste de los tres modelos evaluados (Tabla 22).

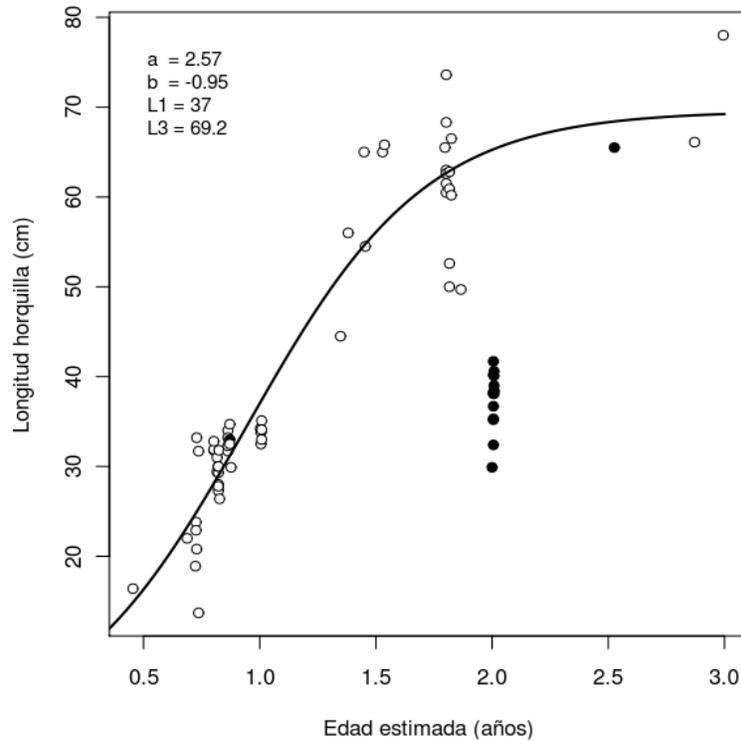


Figura 38: Modelo de crecimiento de Schnute, seleccionado (menor AIC) para representar la relación entre edad y talla de salmón coho observada en el Fiordo Aysén, 2009-2010. Círculos negros identifican peces con evidencia de haber pasado su primer invierno en agua dulce (S1).

Tabla 22: Parámetros de los modelos de crecimiento individual ajustados a la información de edad y longitud de horquilla obtenida para salmón coho en el Fiordo Aysén (2009-2010). AIC: criterio de información de Akaike. n= 58 observaciones.

Modelo	Parámetro	Valor estimado	EE	AIC
Von Bertalanffy	L_{∞}	87.80	0.0126	869,5
	K	0.80	0.1672	
	t_0	0.31	0.0032	
Gompertz	L_{∞}	105.77	0.1327	900,3
	g_t	0.80	0.0806	
	t_0	1.10	0.0170	
Schnute (4 parámetros)	a	1.68	0.0202	862,2
	b	-0.09	0.0222	
	L_1	37.03	0.0114	
	L_3	65.10	0.0086	

iv. *Trucha arcoiris*

De manera similar a salmón coho, nuestros resultados sugieren la existencia de dos o más grupos de peces caracterizados por distintas relaciones talla-edad. Estas diferencias se hicieron más notables en individuos de mayor edad (>2,4 años), donde el modelo único ajustado pasa a una distancia equidistante (Figura 39), que falla en representar a plenitud cualquiera de estos patrones de crecimiento. El rango de edades estimado para trucha arcoiris incluyó desde 1,4 a 2,6 años de vida, mientras que el rango de tallas se extendió desde 26 a 61 cm. El mejor ajuste fue obtenido mediante el modelo de Schnute, seguido por el de Gompertz y el de von Bertalanffy.

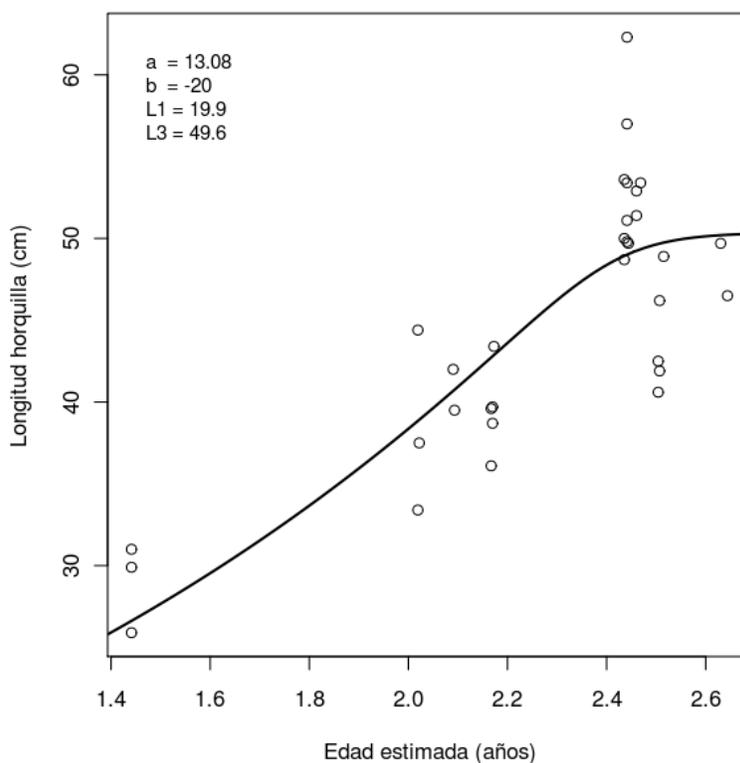


Figura 39: Modelo de crecimiento de Schnute, seleccionado (menor AIC) para representar la relación entre edad y talla de trucha arcoiris observada en el Fiordo Aysén, 2009-2010.

Tabla 23: Parámetros de los modelos de crecimiento individual ajustados a la información de edad y longitud de horquilla obtenida para trucha arcoiris en el Fiordo Aysén (2009-2010). AIC: criterio de información de Akaike. n= 32 observaciones.

Modelo	Parámetro	Valor estimado	EE	AIC
Von Bertalanffy	L_{∞}	68.865	0.0994	436.6
	K	0.697	0.1132	
	t_0	0.724	0.0200	
Gompertz	L_{∞}	79.962	0.3577	434.0
	g_t	0.747	0.1310	
	t_0	1.529	0.0196	
Schnute (4 parámetros)	a	13.084	0.0350	429.1
	b	-20.000	0.2080	
	L_1	19.948	0.0319	
	L_3	49.633	0.0079	

3.6.4. Estructura de edades

A partir de las claves talla-edad obtenidas en el desarrollo del presente objetivo (Tablas 24 a 27) se asignó edades a la totalidad de los peces capturados y medidos en el fiordo, obteniéndose una mirada sinóptica de las edades más frecuentes para cada especie durante el período de estudio (Figuras 40 a 42). De este modo fue posible concluir que en salmón chinook, trucha café y trucha arcoiris predominaron los individuos de edad 2, mientras que en salmón coho predominó el grupo de edad 1. De manera consistente con sus respectivos ciclos vitales, no se observó individuos mayores a 3 años en salmón coho o mayores a 5 años en salmón chinook. En el caso de trucha café y trucha arcoiris, la distribución observada de edades fue más restringida que la distribución esperada para individuos asilvestrados.

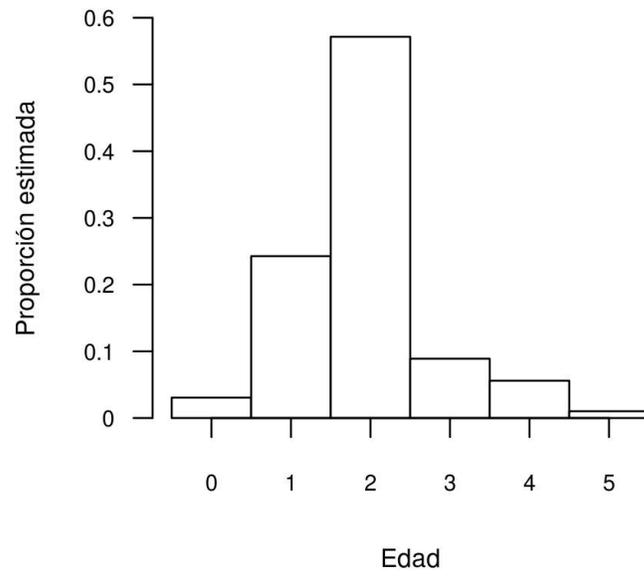


Figura 40: Estructura de edades estimada para la captura de salmón chinook en el Fiordo Aysén (2009-2010)

Tabla 24: Clave talla-edad salmón chinook, ambos sexos. Fiordo Aysén 2009-2010.

LH	Grupo de Edad					Total
	1	2	3	4	5	
15	5	11	0	0	0	16
20	2	4	0	0	0	6
25	1	3	0	0	0	4
30	0	0	1	0	0	1
35	0	3	0	0	0	3
40	0	0	3	0	0	3
45	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0
55	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0
65	0	0	0	0	0	0
70	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0
85	0	0	0	4	2	6
90	0	0	1	1	1	3
95	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	1	0	1
105	0	0	0	0	0	0
110	0	0	1	1	0	2
Total	8	21	6	8	3	46

Tabla 25: Clave talla-edad trucha café, ambos sexos, Fiordo Aysén (2009-2010).

LH	Grupo de Edad				Total
	1	2	3	4	
15	1	5	0	0	6
20	1	4	3	0	8
25	0	1	2	1	4
30	0	0	8	0	8
35	0	1	1	1	3
40	0	0	1	1	2
45	0	0	0	0	0
50	0	0	0	1	1
Total	2	11	15	4	32

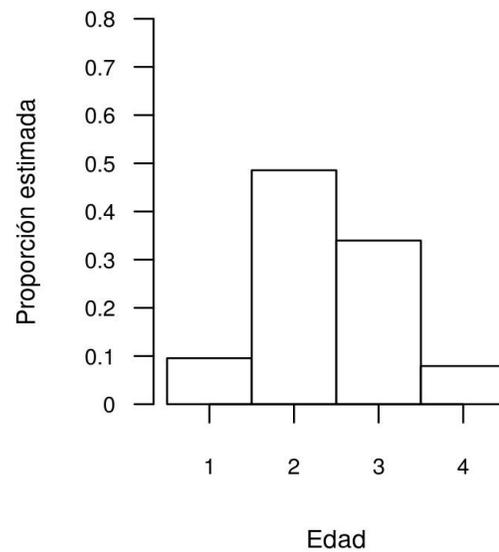


Figura 41: Estructura de edades estimada para trucha café en el Fiordo Aysén (2009-2010).

Tabla 26: Clave talla-edad salmón coho, ambos sexos, Fiordo Aysén (2009-2010).

LH	Grupo de Edad				Total
	0	1	2	3	
15	1	1	0	0	2
20	0	3	0	0	3
25	0	4	0	0	4
30	0	17	2	1	20
35	0	11	3	0	14
40	0	0	10	0	10
45	0	1	0	0	1
50	0	0	2	0	2
55	0	2	1	0	3
60	0	0	4	0	4
65	0	1	7	2	10
70	0	0	1	0	1
75	0	0	1	0	1
80	0	0	0	1	1
Total	1	40	31	4	76

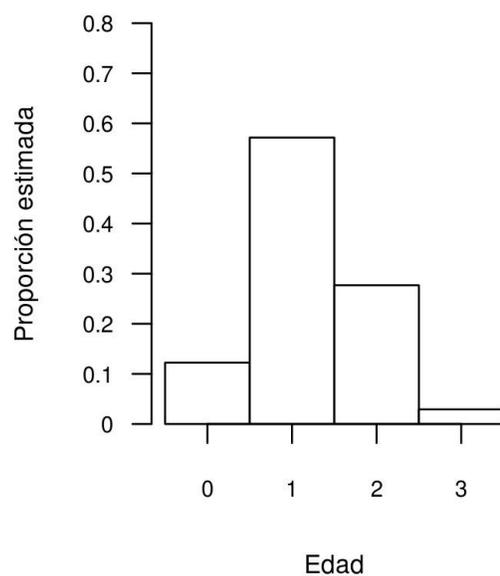


Figura 42: Estructura de edades estimada para la captura de salmón coho en el Fiordo Aysén (2009-2010).

Tabla 27: Clave talla-edad trucha arcoiris, ambos sexos. Fiordo Aysén (2009-2010).

LH	Grupo de Edad			Total
	1	2	3	
20	0	0	0	0
25	1	0	0	1
30	2	0	0	2
35	0	2	0	2
40	0	6	3	9
45	0	2	2	4
50	0	6	2	8
55	0	5	0	5
60	0	1	0	1
Total	3	22	7	32

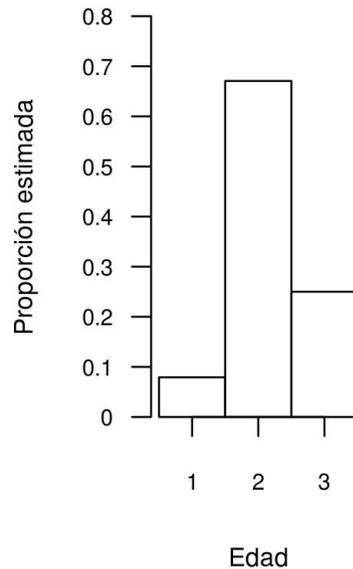


Figura 43: Estructura de edades estimada para la captura de trucha arcoiris en el Fiordo Aysén (2009-2010).

3.7. Muestreo experimental de adultos retornantes con tecnología video-acústica.

La metodología empleada experimentalmente, por primera vez, en Chile permitió discriminar con claridad los peces que cruzaron el campo de la cámara DIDSON, pudiendo discriminarlos claramente de otros objetos gracias al movimiento ondulatorio característico de su natación, evidente en las imágenes obtenidas. La apreciación cualitativa efectuada durante el post-proceso de las imágenes sugiere que, bajo las condiciones de muestreo aplicadas, esta capacidad discriminante podría disminuir drásticamente para peces de longitud inferior a 20 cm.

La densidad estimada para salmón chinook en el área y periodo de estudio fue de $0,046 \text{ ind} \cdot \text{m}^{-3}$, mientras que el número esperado de peces (ref. 10 min) fue de $0,77 \pm 0,046 \text{ EE}$. El análisis de los datos para salmón coho mostró que el número esperado de observaciones en 10 minutos fue mayor en el Río Aysén ($0,51 \pm 0,068 \text{ EE}$) que en el Río Simpson ($0,30 \pm 0,090 \text{ EE}$). Tanto la densidad estimada como el valor esperado de peces fue mayor para salmón chinook que para salmón coho (Tabla 28).

La frecuencia de tallas de individuos observados acústicamente en el Río Mañihuales mostró ejemplares entre 20 y 110 cm (LT), existiendo un fuerte predominio de individuos juveniles, con una moda principal de 35 cm (LT) (Figura 43). Se pudo observar, no obstante, dos grupos discretos, el más abundante respecto a esta moda principal (rango de 20 a 70 cm LT) y otro grupo secundario en torno a una moda de 95 cm, con peces (probablemente salmón chinook adulto) entre 80 y 110 cm (LT).

Las tallas estimadas para los peces observados acústicamente en el Río Aysén presentaron un rango entre 15 y 60 cm (LT), con un fuerte predominio de individuos juveniles, entre 20 y 25 cm. Para el Río Simpson se observó un rango de tallas entre 25 cm y 50 cm (LT), con un predominio similar de individuos juveniles en torno a una moda de 25 cm (Figura 44).

Tabla 28: Densidad estimada y número esperado de avistamientos para salmón chinook y coho en distintos puntos de la cuenca del Río Aysén, 2010.

Sitio	Especie	Nº esperado peces/10 min	EE	Densidad estimada ($ind \cdot m^{-3}$)	EE
Río Mañihuales	Salmón chinook	0,77	0,053	0,046	0,0032
Río Aysén	Salmón coho	0,51	0,068	0,031	0,0041
Río Simpson	Salmón coho	0,30	0,090	0,018	0,0053

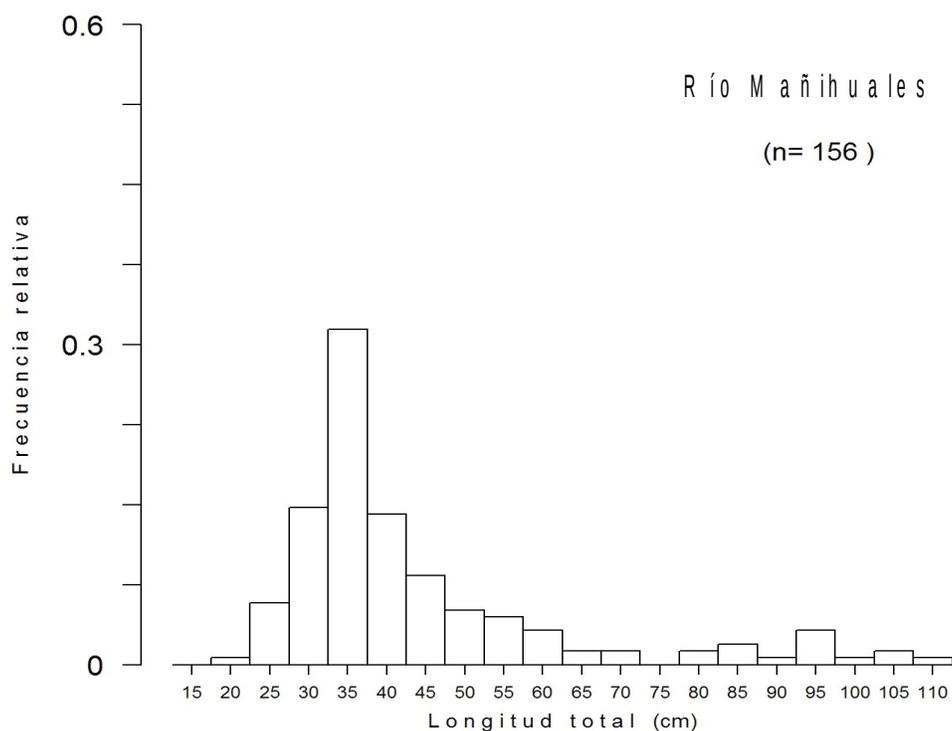


Figura 44: Estructura de tallas de individuos observados acústicamente con cámara DIDSON durante la época de retorno de salmón chinook en el Río Mañihuales, año 2010.

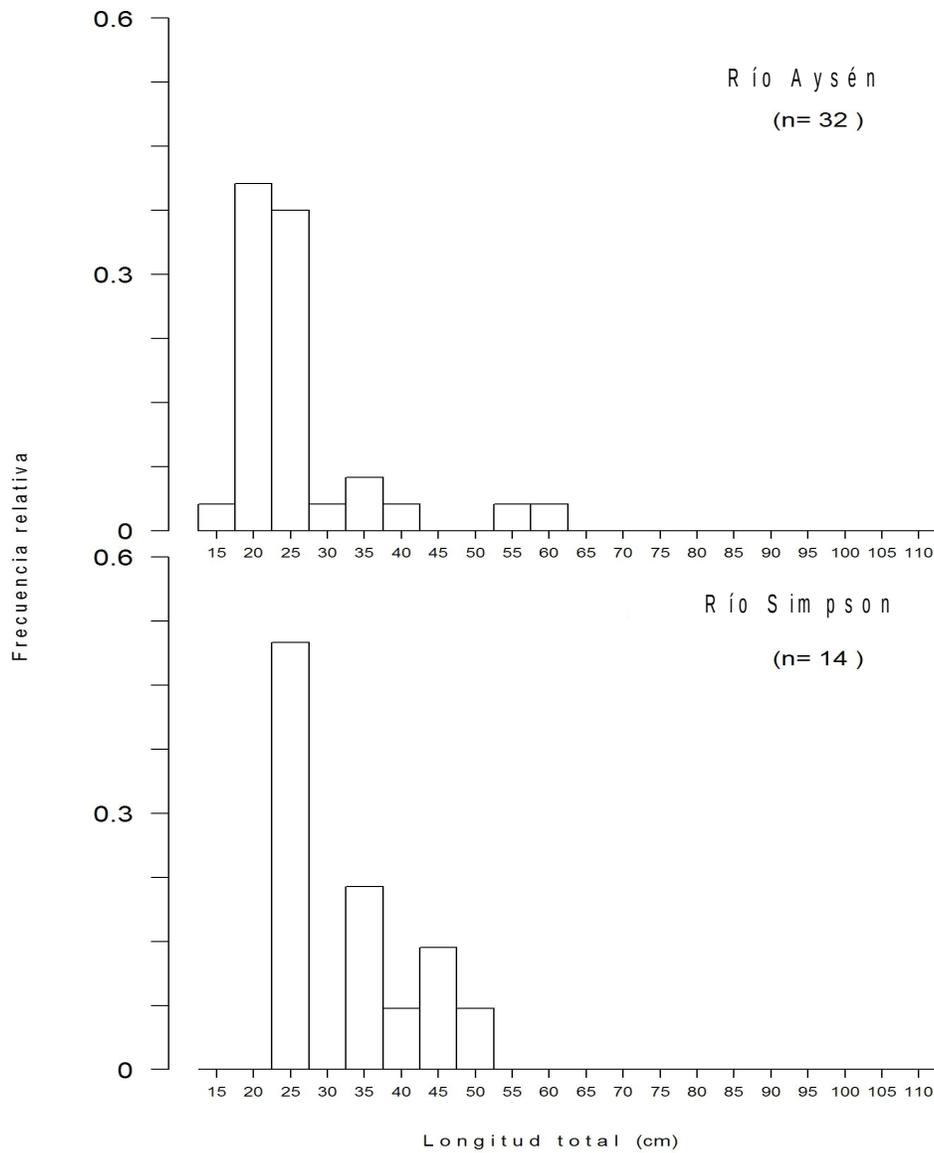


Figura 45: Estructura de tallas de individuos observados acústicamente con cámara DIDSON durante la época de retorno de salmón coho en los ríos Aysén y Simpson.

3.8. Análisis de composición de la dieta

3.8.1. Análisis general

De un total de 748 salmónidos capturados en el Fiordo Aysén con motivo de este estudio, se presentaron con algún tipo de contenido orgánico 222 estómagos, correspondientes a un 29,7%. El análisis posterior realizado se refiere al conjunto de estómagos con contenido (Tabla 29).

El espectro de presas encontradas alcanza a 24 ítems además de restos orgánicos no identificados que corresponden principalmente a restos de musculatura, probablemente de peces y crustáceos (Tabla 31).

Como grupo, Peces incluye a la mayoría de los ítems encontrados, seis a nivel de especies, otros tres reconocibles a nivel de género y uno a nivel de familia. Dentro del grupo Nototheniidae no identificado, es muy probable que todos ellos correspondan a juveniles de algunas de las especies de *Patagonotothen* reconocidas para esa área: *P. brevicauda*, *P. cornucola*, *P. longipes* y/o *P. tessellata* (Tabla 31).

Tabla 29: Número de estómagos de salmones con contenido orgánico por especie salmonídea.

Especie	Estómagos con contenido	% con contenido	Estómagos sin contenido	Total estómagos revisados
Salmón del Atlántico	-	0,0%	6	6
Salmón chinook	66	41,2%	94	160
Salmón coho	85	34,0%	165	250
Trucha arcoiris	17	9,8%	157	174
Trucha café	54	34,2%	104	158
Total	222	29,7%	526	748

En el grupo Crustacea, se logró identificar tres ítems a nivel de especie y otros tantos a nivel de taxa mayores, muchos de ellos sólo con presencia ocasional. Cierran el conjunto, algunos invertebrados como Cephalopoda, Polychaeta y otros de presencia puntual (Tabla 31). Sólo como una manera de mostrar la variedad en la amplitud trófica, se ha incorporado el grupo “Otros”, para incluir allí desde restos de algas, pellets, piedras, arena, semillas, plástico, colilla de cigarro, etc. (Tabla 31).

Se realizó una caracterización de la dieta de los salmónidos en cada zona a nivel de los taxa principales (Figura 45) donde se observa que tanto para salmón chinook como para salmón coho y trucha café el principal ítem alimentario son peces (clase Actinopterygii) mientras que trucha arcoiris no presentó un patrón claro a través del estuario, siendo Crustacea e Insecta los principales grupos.

La dieta de salmón coho muestra diferencias entre zonas, en la zona 1 no se observó una preferencia clara por un grupo en particular siendo Actinopterygii, Crustacea e Insecta los principales ítems presa con importancia similar, mientras que en la zona 3, más cercana a la cabeza del Fiordo, se observa una clara preferencia por Actinopterygii disminuyendo la importancia de Crustacea y casi manteniéndose la importancia de Insecta.

En la dieta de salmón chinook entre zonas se observa que desde la boca del Fiordo (zona 1) hasta la cabeza de éste (zona 3) hay un claro aumento de la preferencia por Actinopterygii disminuyendo notablemente la importancia de los otros ítems.

En la dieta de trucha arcoiris el ítem Actinopterygii no tiene la misma importancia que en los otros salmónidos. Se observa que avanzando hacia la cabecera del Fiordo aumenta notoriamente la importancia del ítem Insecta, mientras en las otras zonas el ítem más importante es Crustacea. Para la trucha café si bien se observa una variada dieta, claramente su ítem preferido es Actinopterygii.

3.8.2. Composición de la dieta de salmón chinook,

Verano

El ítem alimentario más importantes identificado para salmón chinook en la temporada estival correspondió a ejemplares de la familia Nototheniidae (74,36%) seguido de Actinopterygii n.i. (11.87%). Los ítems de mayor importancia gravimétrica en el contenido estomacal fue *Munida gregaria* seguido de Nototheniidae (Error: Reference source not found).

Tabla 30: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para salmón chinook en verano.

Ítems	N%	F%	P%	IIR	IIR%
Actinopterygii n.i.	8.48	38.46	9.16	678.58	11.87
<i>Agonopsis chiloensis</i>	1.82	3.85	0.41	8.59	0.15
Crustacea n.i.	30.30	7.69	0.56	237.42	4.15
Insecta	4.24	26.92	2.96	193.88	3.39
<i>Merluccius sp</i>	2.42	11.54	2.32	54.77	0.96
Miscidacea	0.61	3.85	1.48	8.02	0.14
<i>Munida gregaria</i>	7.27	3.85	55.16	240.11	4.20
Nototheniidae	38.18	69.23	23.20	4249.42	74.36
Octopoda	2.42	3.85	0.55	11.43	0.20
Perciformes	0.61	3.85	1.18	6.88	0.12
Phosichthyidae	3.03	3.85	2.50	21.27	0.37
<i>Sprattus fuegensis</i>	0.61	3.85	0.518	4.32	0.08

Invierno

El ítem alimentario más importante identificado para salmón chinook en invierno correspondió a Actinopterygii n.i. (79.23%) seguido de sardina austral *Sprattus fuegensis* (18,5%), el mismo orden de importancia se da para el índice gravimétrico y de frecuencia de ocurrencia (Tabla 32).

Cerca del 40% de los salmones chinook capturados en el Fiordo Aysén presentaron algún tipo de contenido estomacal. De acuerdo a lo observado en el presente estudio, el ítem Actinopterygii posee una importancia a través de todo el año, observándose un aumento en la importancia del ítem *S. fuegensis* en invierno. En invierno el número de ítems presa

es de 8, mientras que en verano aumenta a 12 ítemes (Error: Reference source not found y 32).

Tabla 31: Listado de presas encontradas en estómagos de salmónidos capturados en el Fiordo Aysen 2009-2010. n.i.: no identificado.

Phyllum Sub-phyllum Clase	Orden	Familia	Género especie
Arthropoda			
Crustacea			
Maxillopoda	Stomatopoda		
Cirripectida			
Malacostraca	Amphipoda	Euphausiidae	<i>Euphausia sp.</i>
	Euphausiacea	Varunidae	<i>Hemigrapsus crenulatus</i>
	Decapoda	Xanthidae	
		Galatheidae	<i>Munida gregaria</i>
	Mysidacea		
Pycnogonida			
Insecta			
Mollusca			
Cephalopoda	Octopoda		
Gastropoda			
Chordata			
Actinopterygii			
	Perciformes	Agonidae	<i>Agonopsis chiloensis</i>
		Nototheniidae	<i>Eleginops maclovinus</i>
	Osmeriformes	Galaxiidae	<i>Aplochiton sp.</i>
		Microstomatidae	<i>Nansenia sp</i>
	Clupeiformes	Engraulidae	<i>Engraulis ringens</i>
		Clupeidae	<i>Sprattus fuegensis</i>
	Gadiformes	Merlucciidae	<i>Merluccius sp.</i>
	Atheriniformes	Atherinopsidae	<i>Odontesthes regia</i>
	Salmoniformes	Salmonidae	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
	Stomiiformes	Phosichthyidae	
Annelida			
Polychaeta			
Indeterminado			
Otros			

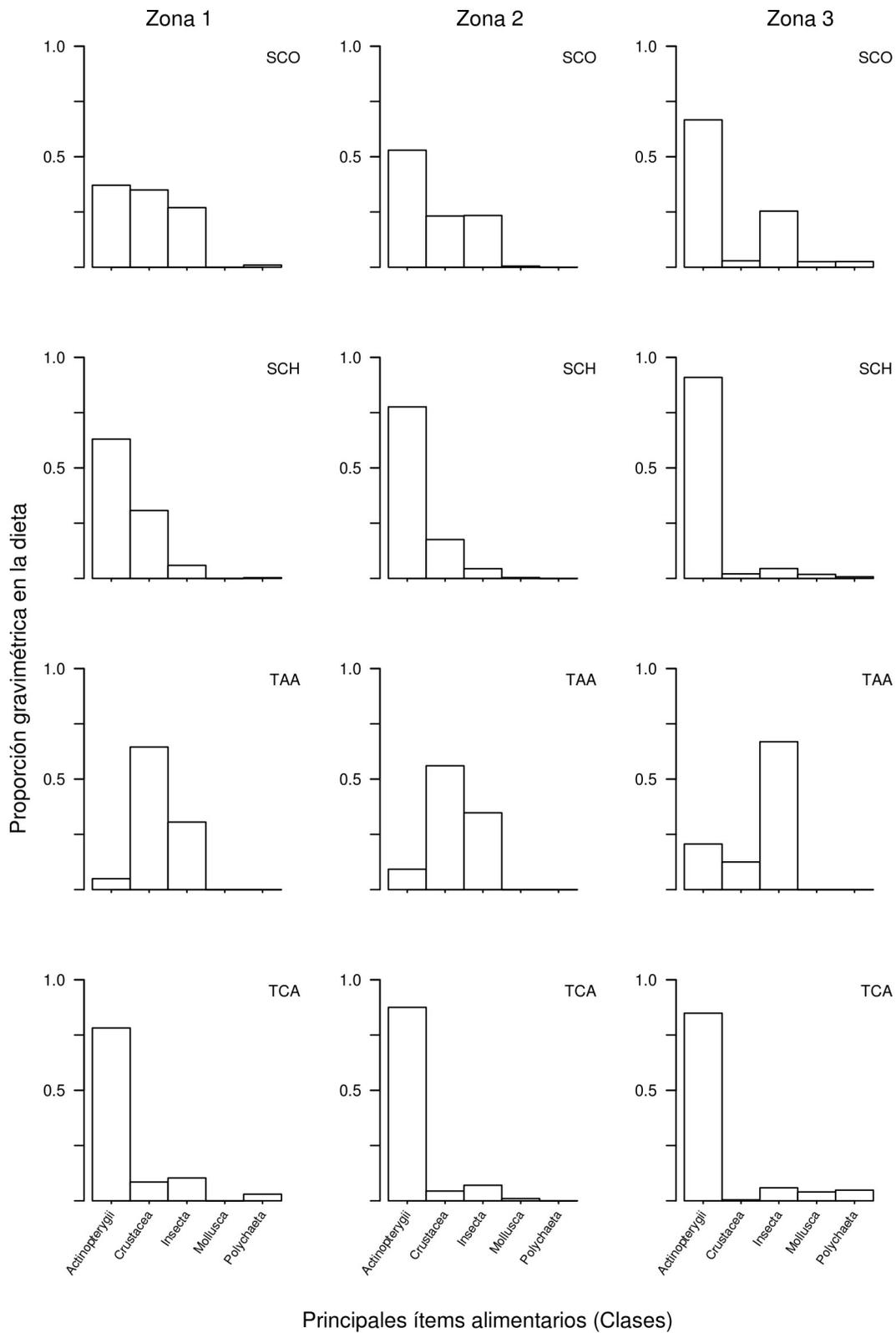


Figura 46: Caracterización de la dieta de especies salmonídeas por zona basados en los principales taxa.

Tabla 32: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para salmón chinook invierno.

items	N%	F%	P%	IIR	IIR%
Actinopterygii n.i.	41.10	85.19	59.89	8602.58	79.23
Insecta	26.71	3.70	0.13	99.43	0.92
Mollusca	1.37	3.70	0.38	6.46	0.06
Octopoda	13.70	7.41	2.41	119.33	1.10
<i>Odontesthes regia</i>	0.68	3.70	2.01	9.98	0.09
Polychaeta	0.68	3.70	0.69	5.09	0.05
<i>Sprattus fuegensis</i>	15.07	40.74	34.29	2011.08	18.52
Stomatopoda	0.68	3.70	0.19	3.25	0.03

3.8.3. Composición de la dieta de trucha café

Verano

La dieta de trucha café en la temporada estival estuvo compuesta de 15 ítems alimentarios donde el ítem más importante identificado fue Nototheniidae (79,41%) seguido de Actinopterygii n.i. (15,44%). Se puede observar que los ítems de mayor importancia gravimétrica y de frecuencia de ocurrencia pertenecen todos a la clase Actinopterygii (Tabla 33).

Invierno

La dieta de trucha café en la temporada invernal se vió representada por siete ítems donde el más importante sigue siendo Actinopterygii seguido en importancia por Insecta. Insecta presenta la mayor frecuencia numérica (50) y el menor índice de porcentaje gravimétrico (15,94%, Tabla 34).

Cerca del 35% de los estómago de trucha café capturados en el Fiordo Aysén durante el estudio se presentaron con contenido estomacal. Se observa una diferencia importante en la cantidad de ítems presa, siendo 15 en la temporada estival y sólo 7 en la temporada invernal. Se observa además una importancia del grupo Peces a lo largo de todo el estudio (Tabla 33 y 34).

Tabla 33: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para trucha café, verano.

Items	N%	F%	P%	IIR	IIR%
Actinopterygii	9.77	28.89	21.50	903.34	15.44
Amphipoda	0.57	2.22	0.59	2.5951	0.04
Crustacea	0.57	2.22	0.12	1.5407	0.03
<i>Eleginops maclovinus</i>	1.15	4.44	7.22	37.214	0.64
<i>Engraulis ringens</i>	0.57	2.22	1.43	4.4534	0.08
Gastropoda	0.57	2.22	0.12	1.5407	0.03
Insecta	3.45	13.33	1.22	62.188	1.06
<i>Merluccius sp</i>	1.72	4.44	1.32	13.541	0.23
<i>Nansenia sp</i>	0.57	2.22	8.80	20.823	0.36
Nototheniidae	74.71	51.11	16.17	4645	79.41
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	2.30	2.22	19.97	49.484	0.85
Perciformes n.i.	1.15	2.22	0.07	2.7124	0.05
Polychaeta	0.57	2.22	0.18	1.6725	0.03
<i>Sprattus fuegensis</i>	1.72	4.44	21.18	101.79	1.74
Xanthidae	0.57	2.22	0.12	1.5407	0.03

Tabla 34: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para trucha café, invierno.

ítemes	N%	F%	P%	IIR	IIR%
Actinopterygii	17.24	57.14	56.30	4202.41	64.27
<i>Agonopsis chiloensis</i>	3.45	14.29	9.28	181.86	2.78
Amphipoda	3.45	14.29	4.07	107.33	1.64
<i>Aplochiton sp</i>	10.34	14.29	19.04	419.75	6.42
Insecta	34.48	28.57	2.57	1058.78	16.19
Nototheniidae	10.34	14.29	7.59	256.18	3.92
Polychaeta	20.69	14.29	1.15	312.02	4.77

3.8.4. Composición de la dieta de salmón coho

Verano

El ítem alimentario más importantes identificado para salmón coho en verano correspondió a ejemplares de la familia Nototheniidae (45,53%) seguido de Insecta n.i. (34,68%). Los ítemes de mayor importancia gravimétrica en el contenido estomacal de salmón coho fueron *Odontesthes regia* y Nototheniidae (Tabla 35).

Tabla 35: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para salmón coho verano.

items	N%	F%	P%	IIR	IIR%
Actinopterygii n.i.	5.99	18.18	2.14	147.79	3.53
<i>Agonopsis chiloensis</i>	0.60	3.03	0.74	4.05	0.10
Crustacea	47.90	6.06	0.99	296.32	7.07
Insecta	12.57	57.58	12.67	1453.27	34.68
Nototheniidae	27.54	36.36	24.92	1907.77	45.53
<i>Odontesthes regia</i>	1.80	6.06	53.45	334.85	7.99
Phosichthyidae	2.40	6.06	4.15	39.66	0.95
Polychaeta	0.60	3.03	0.30	2.71	0.06
<i>Sprattus fuegensis</i>	0.60	3.03	0.65	3.78	0.09

Invierno

El ítem alimentario más importantes identificado para salmón coho en la temporada invernal correspondió a Actinopyerygii n.i. (48.12%) seguido de sardina austral *Sprattus fuegensis* (31.45%), igual orden de importancia se da para la importancia gravimétrica y de frecuencia (Tabla 36).

Cerca del 35% de los estómagos de salmones coho capturados en el Fiordo Aysén con motivo de este estudio presentaron contenido estomacal. Si bien el número de ítemes presa no varía de manera importante de una temporada a otra, si lo hizo el tipo de ítemes. En la temporada estival está más centrada en ítemes peces, en cambio en invierno la dieta es mas variada en otras taxa (Tabla 35 y 36).

Tabla 36: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para salmón coho invierno

items	N%	F%	P%	IIR	IIR%
Actinopterygii	20.90	33.33	29.45	1678.22	48.12
<i>Aplochiton sp</i>	2.99	3.33	5.23	27.38	0.78
Cirripedia	4.48	10.00	7.07	115.47	3.31
Crustacea	5.97	13.33	9.69	208.84	5.99
<i>Euphausia sp</i>	38.81	3.33	2.51	137.73	3.95
Insecta	7.46	13.33	4.37	157.80	4.52
Mollusca	1.49	3.33	5.06	21.84	0.63
Nototheniidae	1.49	3.33	0.48	6.59	0.19
Polychaeta	2.99	6.67	2.55	36.89	1.06
<i>Sprattus fuegensis</i>	13.43	23.33	33.58	1097.00	31.45

3.8.5. Composición de la dieta de trucha arcoiris

Verano

El ítem alimentario más importantes identificado para trucha arcoiris en la temporada de verano es Insecta (43.78%) seguido de Crustacea n.i. (37.63%). Los ítems de mayor importancia gravimétrica en el contenido estomacal fue *Nansenia sp* seguido de Crustacea n.i.(29.61%) (Tabla 37).

Tabla 37: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para trucha arcoiris verano.

Items	N%	F%	P%	IIR	IIR%
Crustacea	30	42.86	29.61	2554.63	37.63
<i>Hemigrapsus crenulatus</i>	10	14.29	5.17	216.73	3.19
Insecta	40	57.14	12.01	2972.00	43.78
<i>Nansenia sp</i>	20	14.29	53.211	1045.87	15.40

Invierno

La dieta de trucha arcoiris en la temporada invernal se vió representada sólo por tres grupos en igual importancia relativa éstos son: Crustacea, Insecta y Pycnogonida, el grupo Insecta presenta la mayor frecuencia numérica (50) y el menor índice de porcentaje gravimétrico (15.94%, Tabla 38).

Debemos mencionar que un gran porcentaje de los estómagos de trucha arcoiris se presentaron sin contenido estomacal (cerca del 90%), esta puede ser la razón por la trucha arcoiris presenta una dieta pobre y restringida mostrando en ambas estaciones un bajo número de ítems presa, los ítems Crustacea e Insecta son comunes para ambas estaciones (Tabla 37 y 38).

Tabla 38: Frecuencia numérica (N%), frecuencia de ocurrencia (F%), gravimetría (P%) e índice de importancia relativa (IIR%) para trucha arcoiris invierno

Items	N%	F%	P%	IIR	IIR%
Crustacea	25	50	40.58	3278.986	32.79
Insecta	50	50	15.94	3297.101	32.97
Pycnogonida	25	50	43.48	3423.913	34.24

4. DISCUSIÓN

4.1. Composición y diversidad de la fauna íctica

Como resultado de la pesca de investigación realizada en el Fiordo Aysén fue posible capturar e identificar 13 taxa de especies nativas y 5 especies de salmónidos: salmón chinook, trucha café, salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico. Esta riqueza específica observada corresponde, evidentemente, a una sub-estimación de la riqueza efectiva del fiordo, la cual resulta, muy probablemente, de la selectividad de los artes utilizados (redes de enmalle, espineles verticales) y de la representatividad incompleta de los sitios de muestreo (bahías protegidas y someras, aptas para la operación de redes de enmalle). Estudios anteriores, en efecto, indican la presencia de al menos 63 taxa en la Región de Aysén (Rademacher 2007; Zama & Cárdenas 1984). Sólo en Ensenada Baja (cabeza del Fiordo Aysén), Zama & Cárdenas (1982; 1984) reportan un número de 17 taxa, mientras que Pequeño y Olivera (2007) encontraron 24 taxa de especies nativas en un estudio restringido al estrato batimétrico de 0 a 15 m, en esta misma región.

La baja biodiversidad encontrada en el presente estudio, medida por el índice H de Shannon, responde numéricamente a la modesta riqueza específica encontrada y a la notable dominancia en número de robalo y pejerrey, que representaron un 86,9% de las capturas. Si bien esta dominancia en las capturas, refleja con gran probabilidad altos niveles de abundancia de robalo y pejerrey en la comunidad del fiordo, es muy posible que tales proporciones se hayan visto sesgadas por los artes de muestreo empleados. A manera de ejemplo, mientras que sardina austral está casi ausente en las muestras obtenidas, corresponde a una de las presas más abundantes del fiordo, como lo refleja el propio análisis de contenido estomacal.

La mayor diversidad observada en los meses de verano-otoño, parece estar influenciada por fluctuaciones asociadas a la llegada y salida de contingentes reproductivos, incluidos los salmónidos asilvestrados salmón chinook y trucha café. En términos espaciales, la mayor diversidad aparente en el área de la cabeza del fiordo (Zona 3), podría sustentarse en la mayor productividad y heterogeneidad ambiental de esta área (Campuzano et al. 2008), donde la interacción agua dulce-agua salada es más fuerte.

Las cinco especies de salmónidos encontradas en el Fiordo difieren de aquellas encontradas por Soto et al. (1997) en 1995-1996, en la presencia de salmón chinook no registrada en el trabajo anterior. Esta especie tampoco fue reportada por Zama & Cárdenas (1984; 1982) a comienzos de la década de los 80, pero si lo fue en el informe de Niklitschek & Aedo (2002). Salmón chinook, al igual que trucha café corresponde a una especie exótica que no se cultiva, ni se ha cultivado, en el Fiordo Aysén y constituye, por ende, una población asilvestrada que habría colonizado el fiordo en años recientes. La secuencia disponible de reportes de presencia/ausencia sugiere que esta colonización podría haber ocurrido hacia la última mitad de la década 1990-1999.

Trucha café, la otra población asilvestrada, contribuyó con un 25% de los ejemplares capturados, siendo la segunda especie de salmónido más abundante en nuestras capturas, muy por debajo del 0,2% encontrado por Soto et al. (1997). Dada la similitud metodológica

entre ambos estudios, estas diferencias relativas podrían resultar tanto de un aumento en la abundancia de esta especie, como de una reducción en la abundancia de los otros salmónidos.

Nuestro estudio no arrojó evidencia de la presencia de otros salmónidos introducidos en la cuenca del Río Aysén durante la década de 1970-1979, tales como salmón keta (*Oncorhynchus keta*), salmón rosado (*Oncorhynchus gorbuscha*) o salmón cereza (*Oncorhynchus masou*). Estos resultados corroboran el bajo éxito de esta iniciativa observada por Zama y Cárdenas (1984b; 1984c; 1982).

La proporción relativa de los salmónidos cultivados en el fiordo, también difiere sustancialmente entre nuestros resultados y los presentados por Soto et al. (1997) para la Región de Aysén (Puerto Chacabuco y Puerto Cisnes). Mientras que ellos reportaron un predominio numérico de salmón coho, con un 80% de las capturas obtenidas en 1995-1996, esta especie representó sólo un 30% de las capturas obtenidas por el presente estudio en 2009-2010 (Tabla 39). Esta diferencia coincide con los cambios productivos de la salmonicultura nacional y local, en la que el salmón coho pasó de representar el 78% de la cosecha en 1996 al 13% de la misma en 2009. Sugiere, asimismo, una fuerte dependencia de la abundancia relativa de esta especie de los escapes desde centros de cultivo. Un caso opuesto es el de salmón del Atlántico, cuya participación en nuestras capturas fue de sólo un 0,4%, cifra que contrasta fuertemente con su importancia relativa del orden del 60% en la cosecha del Fiordo del año 2009. Sólo una incidencia desproporcionadamente baja de escapes en esta especie, o una gran mortalidad de los escapados podría explicar esta paradójica situación. La última hipótesis podría encontrar sustento en las altas tasas de mortalidad por virus ISA que afectó a las empresas salmoneras en Chile y en el fiordo durante el periodo 2007-2009.

Tabla 39: Porcentaje de captura por especies salmonídeas en el trabajo de Soto et al. (1997) y en el presente estudio.

Especie	(Soto et al. 1997)	Presente estudio
Salmón chinook	0%	24,1%
Trucha café	0,2%	25,0%
Salmón coho	82,0%	30,9%
Trucha arcoiris	16,1%	19,2%
Salmón del Atlántico	1,7%	0,8%

4.2. Abundancia relativa de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén (CPUE)

La abundancia relativa de salmónidos de vida libre en el fiordo es la resultante de cuatro fuerzas principales. En primer lugar, el aporte de los escapes catastróficos y operacionales desde centros de cultivos, que sería la fuente básica de origen de los individuos presentes de salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico. En segundo y tercer lugar, el reclutamiento natural que sustentaría las poblaciones de salmón chinook y trucha café y las

migraciones reproductivas que efectúan ambas especies inmigrando y emigrando del fiordo, de acuerdo a sus ciclos de vida. Finalmente, la mortalidad natural (depredación, enfermedades o senectud) y por pesca que afecta de manera distinta a las distintas especies.

El efecto conjunto de los cuatro factores antes mencionados, donde se combinan elementos claramente estocásticos (escapes catastróficos) con otros altamente regulares (periodicidad de las migraciones reproductivas), conforman un cuadro de gran variabilidad que dificulta la generalización de los resultados del presente estudio en el tiempo y el espacio. Esta variabilidad afectaría más fuertemente a especies cuya abundancia parece depender principal o completamente de los escapes desde centros de cultivo, esperándose que tiendan a repetirse los patrones observados en las especies asilvestradas, como la mayor presencia de adultos de salmón chinook en primavera y de sus juveniles en primavera-verano.

La alta variabilidad de la abundancia relativa de salmón coho y de trucha arcoiris entre campañas de muestreo indica la existencia de rápidos cambios que no sólo podrían explicarse por elevadas tasas de mortalidad natural, sino que también por procesos de dispersión de los individuos escapados hacia zonas externas al Fiordo Aysén, o hacia zonas que, estando dentro del fiordo, no fueron representadas adecuadamente por las estaciones de muestreo empleadas en el proyecto.

Mientras que la periodicidad de los procesos migratorios debiera ser relativamente estable en las especies asilvestradas, la magnitud de los contingentes que ingresan anualmente al sistema puede ser también altamente variable, dependiendo del éxito del reclutamiento y de la mortalidad por pesca que podría estar creciendo, principalmente en el caso del salmón chinook, que comienza a ser explotado por las comunidades ribereñas para fines de consumo doméstico. Es así como el índice de abundancia relativa (CPUE) de salmón chinook y trucha café sugiere una caída inesperadamente severa entre 2009 y 2010. Evidentemente no es posible deducir si este cambio responde a una tendencia o a simple variabilidad interanual.

4.3. Estructura de tallas de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén

La estructura de talla de los salmónidos de vida libre presentes en el Fiordo Aysén presenta gran variabilidad entre y dentro de especies. Para el caso del salmón coho, especie cultivada en el fiordo, fue posible observar, al menos, tres grupos discretos de tallas, durante 2009, destacándose la alta proporción de peces pequeños o juveniles (<20 cm, ~100 g) capturados hacia fines de primavera y comienzos de verano. Esta época coincide temporalmente con la época de siembra de esta especie, pero también con la época en que se hubiera esperado el ingreso de juveniles al fiordo desde zonas de crianza en agua dulce. Aunque esta última consideración impide descartar completamente la existencia de reproducción natural de salmón coho en la cuenca, la ausencia de anillos invernales en la mayoría de las escamas y otolitos analizados para esta especie sugiere que se trata de jóvenes del año, que no habrían alcanzado esa talla y peso en condiciones naturales. La drástica disminución del número de adultos de esta misma especie durante 2010, por otro lado, sugiere altas tasas de mortalidad natural de los salmónidos escapados y la inexistencia de un stock desovante estable de importancia.

De manera similar a lo indicado para salmón coho, trucha arcoiris presentó una estructura de tallas altamente heterogénea constituida por grupos relativamente discretos de juveniles y adultos, con predominancia de hembras durante todo el año. En 2010, se observa también una merma significativa de la proporción de ejemplares adultos y de la CPUE en general, lo cual indicaría altas tasas de mortalidad natural, emigración de las zonas cubiertas por el muestreo y/o ausencia de nuevos escapes durante los últimos meses de muestreo.

Para las especies asilvestradas, salmón chinook y trucha café, se detectó un amplio rango de tallas con importantes grupos de tamaños que parecen constituir sendas cohortes. En salmón chinook, se detectó la presencia de juveniles durante parte importante del año, especialmente entre comienzos de primavera y comienzos de otoño, época en que podría ocurrir su emigración al océano. Los adultos de esta especie, en cambio, sólo fueron detectados en primavera, cuando parecen ir de tránsito por el Fiordo hacia sus lugares de reproducción.

En trucha café, la importante presencia de juveniles <20 cm indica una migración temprana desde las zonas de crianza en agua dulce a las aguas estuarinas del fiordo, la que podría estar ocurriendo mayoritariamente durante su segundo año de vida. Aunque se encontró peces maduros, en torno a 45-50 cm, llama la atención la ausencia de reproductores de mayor edad y talla. Mientras que Zama (1987) registró tallas máximas de 64,0 cm LS, los ejemplares capturados en el presente estudio no superaron los 50,6 cm LS. Las observaciones de Zama (1987) se extendieron por cuatro años y confirman la baja presencia de adultos durante la temporada de otoño-invierno, lo cual podría deberse a su migración reproductiva hacia agua dulce. La baja proporción de adultos de mayor tamaño en los meses más cálidos, por su parte, podría deberse a su migración a zonas marinas no muestreadas, dentro o fuera del Fiordo Aysén.

4.4. Edad y crecimiento

El desarrollo de metodologías adecuadas para la determinación de edad en salmónidos de vida libre demandó un esfuerzo superior al esperado, asociado a las dificultades propias de la densa matriz de aragonita de los otolitos de estas especies y a la multiplicidad de anillos presentes tanto en sus escamas como en sus otolitos. La multiplicidad de anillos se asocia tanto al ciclo de vida natural de los salmónidos, como al efecto del manejo productivo de los ejemplares en cautiverio. De esta manera, en los otolitos y/o escamas de peces escapados se hace necesario discriminar las marcas anuales (*annuli*) de otros anillos provocados por el traslado entre agua dulce y mar, eventuales traslados posteriores entre centros de cultivo, enfermedades, escape y otras fuentes de estrés que hayan afectado al individuo.

A las dificultades objetivas anteriores, se suman la falta de experiencia y personal entrenado en lectura de edad de salmónidos, existente en la mayoría de los laboratorios de biología pesquera en Chile, y la falta de experimentos de validación que permitan corroborar la interpretación de los anillos anuales y sub-anuales presentes en escamas y otolitos de las poblaciones que habitan los ecosistemas costeros de nuestro país. Estos dos elementos pueden afectar de manera importante la precisión y exactitud de los resultados del presente estudio e imponen cautela a la hora de interpretar los mismos.

El análisis de precisión efectuado (Chang 1982) arrojó coeficientes de variación (CV) promedio intra e inter-laboratorio de 11,1 y 14,0 %, respectivamente. Lo anterior, aplicando un enfoque de análisis integrado, que consideró simultáneamente la información proporcionada por escamas y otolitos. Estos valores fueron inferiores (más precisos) a los obtenidos mediante la lectura de escamas (prescindiendo de los otolitos), cuyos coeficientes de variación intra e inter-laboratorio llegaron a 14,5 y 14,8%, respectivamente. La mayor precisión dentro del laboratorio BIMAC refleja el efecto esperable de la sintonía progresiva de criterios entre lectores, la que puede redundar en mayor precisión a costa de mayor sesgo. El CV obtenido de 11,1% se encuentra por sobre la mediana de 7,6% obtenida a partir de 117 reportes similares revisados por Campana (2001), pero dentro de los rangos usuales para especies de mayor complejidad. Los CV de 32,4 y 60,6% obtenidos, en cambio, a partir de la lectura de otolitos (excluyendo la información de las escamas) excedieron valores aceptables para cualquier aplicación práctica de tales resultados.

El análisis por especies indicó la existencia de casos (salmón chinook y coho) donde la lectura de escamas por sí sola alcanzó mayor precisión que el análisis integrado. Sin embargo, es importante considerar que los otolitos proporcionan valiosa información no visible en las escamas, entre las que se destaca la ausencia de reabsorción durante la migración reproductiva de estas especies (Maceina et al. 2007).

La exactitud depende tanto de la existencia de sesgos sistemáticos en la identificación y conteo de los anillos, como en su interpretación. Mientras que el sesgo sistemático en la lectura puede ser controlado y medido comparando los resultados de múltiples lectores, el sesgo de interpretación tiene que ver con la validación de los supuestos efectuados respecto de la periodicidad de formación de los anillos leídos, un procedimiento frecuentemente omitido en este tipo de estudios (Beamish & McFarlane 1983). En el caso particular del presente trabajo, el supuesto básico de interpretación correspondió a la existencia de un patrón anual e invernal de formación de anillos hialinos en otolitos, concordante con un patrón igualmente anual de formación de anillos en escamas, expresado en la reducción y posterior aumento de distancias inter-circuli, durante los meses de invierno.

El supuesto fundamental antes indicado fue sustentado por un proceso de validación semi-directa conducido para el caso de salmón coho, donde se verificó la existencia de los anillos anuales y sub-anuales descritos en la pauta de interpretación definida ex-ante y se comparó exitosamente la edad conocida (2 años) de reproductores de cultivo, con la edad estimada a través de los tres métodos aplicados: sólo escamas, sólo otolitos y lectura integrada. De este modo, aunque la validación no fue efectuada directamente sobre individuos escapados (por ejemplo a través de métodos de marcaje y recaptura), es razonable suponer que estos individuos mantendrían el mismo patrón de formación de marcas y anillos que presentaron en cautiverio.

En el caso de las tres especies de salmónidos restante, no fue posible aplicar métodos de validación, directa o indirecta, del supuesto de existencia de anillos de formación anual. Sin embargo, existe un sólido cuerpo de literatura y de experiencia de campo y laboratorio que sustenta la aplicación de este supuesto a poblaciones de estas mismas especies en el hemisferio norte (Murray 1994; Wells et al. 2003; Fisher & Pearcy 2005; Maceina et al. 2007; McNicol & MacLellan 2010). La aplicación de este supuesto a las poblaciones de

salmón chinook, trucha café y trucha arcoiris introducidas en el hemisferio sur cobra sentido adicional en base a las siguientes consideraciones: (i) como resultado de su aplicación se estiman rangos de edades y se describen ciclos de vida similares a los observados para estas especies en sus ecosistemas de origen, (ii) las escamas de peces capturados en invierno poseen evidencias claras de la formación de anillos reciente o en desarrollo, y (iii) existe una elevada consistencia entre los patrones observados en otolitos y escamas (Riva-Rossi et al. 2007), similar a la observada en sus ecosistemas de origen.

En términos de estimación de parámetros de crecimiento y construcción de claves talla-edad, se debió enfrentar dos problemas adicionales. El primero de ellos se encontró indudablemente relacionado al relativamente bajo número de salmónidos capturados por especie y crucero, lo que limitó el alcance del análisis y obligó a ignorar preguntas de interés asociadas a los distintos ecotipos de salmón chinook o a los distintos métodos de alevinaje de salmón coho. El segundo de ellos dice relación con la dinámica estocástica de los escapes que tiende a producir múltiples grupos, cuyas trayectorias de crecimiento individual pueden ser sustancialmente distintas. De esta manera, dos individuos hermanos, de la misma edad, pero escapados en dos momentos distintos pueden presentar enormes diferencias en su talla y peso, lo que dificulta la generalización de los modelos de crecimiento y las claves talla-edad generadas por este estudio.

4.5. Composición de la dieta de los salmónidos de vida libre presentes en el Fiordo Aysén

El análisis de la composición de la dieta mostró diferencias importantes entre especies, cuyos hábitos alimentarios tienden a coincidir con aquellas encontradas en sus áreas nativas de distribución. De este modo, trucha café y salmón chinook presentaron hábitos notablemente más piscívoros que las otras dos especies, lo que coincide con estudios anteriores realizados sobre trucha café en esta misma área de estudio (Zama 1987; Zama & Cárdenas 1983; Zama & Cárdenas 1984b; Vargas 1983). La mayor diversidad del hábito trófico de salmón coho y la gran importancia de Insecta en la dieta de trucha arcoiris coinciden, a su vez con lo observado por Soto et al. (1997).

Una particularidad del presente estudio ha sido el predominio de estómagos vacíos, que alcanzó un 70% de estómagos vacíos o sin contenido reconocible. Esta cifra duplica la observada por Soto et al. (1997) y fue particularmente baja en trucha arcoiris (9,8%, n=157) y en los pocos ejemplares capturados de salmón del Atlántico (0%, n=6). A la luz de estos resultados, es de interés poder llegar a conocer los factores que determinan el bajo éxito depredatorio de trucha arcoiris escapada. Entre los factores a investigar se podría considerar aquellos de carácter conductual, como dependencia adquirida de alimentación artificial y aquellos relacionados con la selectividad de presas y la oferta de las mismas en el ambiente.

Dentro de los principales ítems consumidos por los salmónidos de vida libre en el fiordo destacan especies que juegan importantes roles en la estructura trófica del ecosistema local y/o que representan recursos pesqueros de importancia para las comunidades costeras. Entre estas presas se destacan *Munida gregaria*, sardina austral, pejerrey y merluza austral.

La cuantificación del impacto potencial de la presión trófica ejercida por los salmónidos de vida libre sobre éstas y otras especies nativas es materia del objetivo 2 del proyecto.

Es importante destacar la baja presencia de salmónidos en los contenidos estomacales de otros salmónidos, lo que revela bajos niveles de regulación cruzada vía depredación y corrobora su posición como especies competidoras. No se contó, por otro lado, con un número suficiente de muestras procedentes de distintos estratos de tallas como para efectuar un análisis detallado de los posibles cambios ontogenéticos en la dieta de las especies estudiadas. Esta tarea se aborda, no obstante, vía modelación, como parte de las actividades desarrolladas y reportadas en el Capítulo 2 del presente informe.

4.6. Muestreo experimental de adultos retornantes con tecnología video-acústica

Más que obtener resultados cuantitativamente relevantes, el desarrollo de esta línea de trabajo buscó evaluar la factibilidad de aplicar esta nueva tecnología a la estimación del tamaño del contingente de reproductores de salmónidos que remonta los cursos de agua del sur de Chile para fines reproductivos. Como se analizará en el marco del Capítulo 2 del presente informe, los modelos tróficos poblacionales de salmón chinook y trucha café dependen fuertemente de los supuestos aplicados respecto del tamaño del stock desovante. De este modo, desarrollar e implementar métodos costo-efectivos para lograr tales propósitos es una tarea de gran importancia que debe ser llevada a cabo en el corto plazo.

El uso de metodología video-acústica permite la observación directa de los peces que cruzan el haz acústico, con un conteo efectivo de los mismos a una distancia aproximada de 12-20 m, dependiendo del tipo de lente empleado y de la turbidez del agua (Holmes et al. 2006). Esta tecnología permite también estimar el tamaño de los peces insonificados con una precisión nominal de 3 cm a 10 m de distancia de la fuente (Burwen et al. 2010). Las técnicas disponibles no permiten, sin embargo, reconocer directamente las especies insonificadas. En la práctica, es posible discriminar entre grupos de especies que habitan un área cuya composición de especies es conocida. En el caso de los ríos patagónicos, es posible reconocer a los salmónidos como grupo pero no diferenciar entre ellos sin la ayuda de muestreos complementarios o del conocimiento previo de las especies y tallas presentes.

La presente aplicación experimental de la tecnología video-acústica mostró la factibilidad de implementar un muestreo no invasivo del río, a través de un muestreo secuencial y aleatorio de estaciones fijas dispuestas a lo largo de una sección perpendicular al mismo. El enfoque anterior permite trabajar con un único equipo y evita soluciones costosas y perturbadoras, asociadas al desvío del curso del río y/o de los peces a canales de conteo orientados a un enfoque de tipo censal. El costo de precisión o exactitud de este enfoque muestral permanece, no obstante desconocido y debiera ser evaluado en el futuro.

La presente aplicación fue exitosa en reconocer, contar y medir grupos de adultos de salmón chinook remontando el Río Mañihuales a fines de primavera. La validación del reconocimiento específico se obtuvo indirectamente a través del tamaño estimado de los individuos remontantes (>95 cm) y de las capturas reportadas por pescadores deportivos y ribereños del sector. La mayor parte de los individuos observados, no obstante, en las

distintas campañas de terreno se encontró por debajo de los 50 cm de longitud, lo que no permitió asignar los peces observados acústicamente a una determinada especie. De lo anterior, es posible concluir que futuras aplicaciones del método a peces residentes debiera considerar el muestreo de los mismos por pesca eléctrica u otros métodos de muestreo directo.

II. Cuantificar y estimar las tasas de consumo y posibles efectos tróficos producidos por la composición dietaria de los salmonídeos (objetivo 2).

Edwin Niklitschek¹, Billy Ernst², Claudia Barría¹, Miguel Araya³, Pamela Toledo¹

1. INTRODUCCIÓN

La preocupación ambiental relacionada con la fuga de salmónidos en la Patagonia incluye tanto sus efectos tróficos de corto plazo, como los efectos de largo plazo que pudiera tener el establecimiento de nuevas poblaciones de especies exóticas en el área. Los individuos escapados juegan múltiples roles tróficos como depredadores, presas y competidores de otras especies a lo largo de su historia de vida, incluidas las poblaciones nativas y las de salmónidos asilvestrados ya existentes (Soto et al. 1997; Soto et al. 2001). Simulaciones recientes muestran que estos efectos tróficos puede ser de una magnitud relevante en comparación con la pesca local (Barría 2009) efectos ecosistémicos más complejos han sido también documentados en la literatura, al menos para los ecosistemas de agua dulce. Estos incluyen la reducción de la productividad (Utter et al. 1993; Forster 2002; Vigliano et al. 2007) y efectos en cascada, conducentes a la proliferación de algas en los sistemas de agua dulce (Simon & Townsend 2003; Townsend 2003; Eby et al. 2006).

Los registros oficiales indican un amplio rango entre 0 y 2,3 millones de peces escapados al año en la Patagonia noroccidental, lo que ha permitido calcular tasas anuales de escapes masivos (catástrofes) del orden de 4,3 individuos·ton cosechada⁻¹ (O’Ryan et al. 2006). Las presas potenciales de estos salmónidos incluyen peces, crustáceos, insectos y moluscos, en distintas proporciones, dependiendo de la especie y tamaño de los ejemplares escapados, del hábitat y de la época del año (Soto et al. 2001; Jacobsen & Hansen 2001; Haugland et al. 2006; Brodeur et al. 2007). De este modo, es posible esperar una presión depredadora importante sobre algunos recursos de importancia para los pescadores locales, tales como sardina austral *Sprattus fuegensis*, pejerrey *Odontesthes regia* y juveniles de merluza de cola *Macruronus magellanicus*. Es posible asimismo prever una presión de competencia sobre merluza del sur *Merluccius australis* y adultos de merluza de cola, dos importantes especies comerciales en la Patagonia (Soto et al. 1997).

No existe evidencia alguna de reproducción silvestre ni de salmón del Atlántico, ni de trucha arcoiris anádroma, las dos especies cultivadas más importantes para el Fiordo Aysén en 2008. Aunque un núcleo importante de desove de salmón coho fue detectado y persistió por años en el Río Simpson (Niklitschek & Aedo 2002), no se ha observado agregaciones importantes de esta especie en ese sitio durante los últimos 3 años. En contraste, aunque salmón chinook representa menos del 5% de la producción acuícola chilena, ha colonizado con éxito la mayoría de las cuencas del sur de Chile y Argentina durante las últimas décadas (Ciancio et al. 2005; Pascual & Ciancio 2007; Soto et al. 2007; Correa & Gross 2008), existiendo al menos cuatro sitios conocidos de desove de esta especie en la cuenca del Río Aysén (ríos Mañihuales, Ñireguao, Huemules y Blanco. Trucha café por otro lado ha estado presente en el fiordo desde hace varias décadas (Zama & Cárdenas 1983; Zama & Cárdenas 1984a) y representa el segundo miembro permanente de la comunidad del Fiordo Aysén.

En la presente sección, nos hemos concentrado en estimar las tasas individuales de consumo de alimento de las tres especies cultivadas (salmón del Atlántico, salmón coho y trucha arcoiris) y de las dos especies conocidamente asilvestradas en el Fiordo Aysén (salmón chinook y trucha café). El consumo individual total será asignado entre las presas identificadas como parte del análisis de dietas del presente proyecto (objetivo específico 1) y luego expandido, de manera exploratoria, a la población total estimada o asumida en el fiordo, dependiendo de la información disponible.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

La cuantificación del impacto trófico de los salmónidos escapados y asilvestrados (en su rol de predadores) sobre otras especies implica la generación de un modelo trófico-poblacional con los siguientes elementos (sub-modelos):

- i. Tasas de consumo a la talla y edad para cada especie de salmónido presente, en función de variables ambientales (temperatura, salinidad).
- ii. Matriz de composición de dieta de salmónidos presentes a la talla o a la edad (escapados y asilvestrados).
- iii. Crecimiento individual por especie, idealmente asociado a la tasa de consumo de alimento.
- iv. Supervivencia a la talla o a la edad para las especies presentes de salmónidos (escapados y asilvestrados).
- v. Distribución y dispersión ontogenética de salmónidos (escapados y asilvestrados).
- vi. Tamaño poblacional de los predadores.

2.1. Sub-modelo de consumo de alimento a la talla

Para el desarrollo de este módulo, se utilizó una aproximación bioenergética (Winberg 1956; Elliott 1976), basada en la ecuación de balance energético de Winberg (1956), expresada en Joules ($J \cdot d^{-1}$), de acuerdo a sus definiciones más recientes (Niklitschek & Secor 2009) y siguiendo la expresión:

$$G = FC - (RM + SDA + ACT) - (EG + U) - S$$

donde, G=crecimiento, FC=consumo de alimento, RM=metabolismo rutinario, ACT=costo de la actividad locomotora, SDA=metabolismo post-plandial, EG=egestión, U=excreción, y S=producción de gametos.

A partir de sub-modelos predictivos para cada una de los componentes de la ecuación bioenergética y de estimaciones independientes de la tasa de crecimiento observada en el fiordo, se estimó la proporción de la máxima tasa de consumo de alimento (p_a) efectivamente obtenida por cada clase etárea a (Hartman 1993). Este parámetro (p_a) fue obtenido resolviendo iterativamente (en intervalos diarios) para cada especie y cohorte modelada la ecuación,

$$G_a = p_a \cdot \sum_{t=1}^{365} CP_{a,t} - \sum_{t=1}^{365} (RM_t + SDA_t + ACT_t - EG_t - U_t - S_t)$$

donde,

G_a : crecimiento observado (J·año⁻¹)

p_a : proporción estimada de la tasa potencial de consumo de alimento estimada para la clase de edad a .

$CP_{a,t}$: consumo potencial diario de alimento (a máxima ración) estimado para la clase de edad a (J·día⁻¹)

El consumo anual por individuo y clase de edad fue estimado, a su vez, utilizando la expresión

$$C_a = p_a \cdot \sum_{t=1}^{365} CP_{a,t}$$

Para la estimación de p y C_a fue necesario parametrizar y/o estimar los siguientes componentes:

- Modelos bioenergéticos
- Modelo de distribución de temperatura en el fiordo
- Modelos de crecimiento en talla y peso
- Matriz de composición de dieta de salmónidos presentes a la talla o a la edad

2.1.1. Modelos bioenergéticos

Para salmón chinook y salmón coho, nos basamos en modelos bioenergéticos construidos por Beauchamp et al. (1989) y Stewart & Ibarra (1991) a partir de los trabajos experimentales de Brett (Brett 1971a; Brett 1971b) en salmón sockeye (*O. nerka*). Mientras que este modelo ya ha sido validado para salmón chinook por Madenjian et al. (2004), su transferibilidad al salmón coho de cultivo fue evaluada positivamente, como parte de las actividades del presente proyecto (Barría 2009).

Para trucha arcoiris, se utilizó el modelo desarrollado para ecotipo anádromo de esta especie por Rand et al. (1993) Para truchá café se utilizó el modelo de Elliot (1976), aplicado anteriormente en el Río Ñireguao por Segura (2003). En el caso de salmón del Atlántico, se utilizó el modelo recientemente publicado por Smith et al. (2009).

2.1.2. Modelo de distribución de temperatura en el fiordo

Los modelos bioenergéticos dependen fundamentalmente de la masa de los individuos y de la temperatura del agua en que se desarrollan. Para tales fines, se construyó un modelo térmico simplificado del fiordo que representó las temperaturas medias mensuales de los primeros 50 m de la columna de agua durante el periodo de análisis, es decir, entre el 1° de enero de 2003 y el 31 de diciembre de 2009.

Para generar este modelo, se integró, en una base común de datos, información proporcionada tanto por los centros de cultivo de salmónidos que operaron en el área y período de estudio, como por los sensores instalados en la zona como parte de las actividades del proyecto, entre 2008 y 2010 y perfiles de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto realizados con un CTD (Seabird 19+) entre la superficie y un metro sobre el fondo marino en las campañas de terreno realizadas en el Fiordo Aysén.

Los sensores (Star-Oddi mini-DST y HOBO) fueron instalados en 3 estaciones representativas de la cabeza, cuerpo y boca del fiordo a tres estratos de profundidad (0, 15 y 30 m). La información fue primero promediada por día y estación, luego por día y zona y, finalmente, por mes y año.

2.2. Modelo de crecimiento en talla y peso

Estimaciones independientes del crecimiento realizado por especie y clase de edad fueron generadas a partir del análisis de escamas y otolitos de peces capturados en el fiordo, aplicando el método de retro-cálculo basado en intercepto biológico (Campana 2001). Para este propósito, se midió y utilizó las distancias inter-circuli a lo largo del eje ventral de los otolitos sagitales, siguiendo el procedimiento general descrito para salmón coho por Fisher & Pearcy (Fisher & Pearcy 2005). El crecimiento estimado en talla fue convertido a peso mediante las relaciones talla-peso desarrolladas como parte del Objetivo 1, y luego a unidades de energía (kJ) mediante ecuaciones predictivas de densidad energética en función de la talla ajustadas para cada especie, con la excepción de salmón del Atlántico, cuya baja presencia en las capturas no permitió esta aproximación. En este caso, se aplicó el modelo desarrollado para trucha arcoiris, considerando la mayor similitud en historias de vida (iteroparí) y la congruencia aparente entre la densidad energética predicha paratrucha arcoiris y los valores observados en salmón Atlántico (n=3).

Para la predicción de la densidad energética de los predadores (salmónidos) se evaluó modelos alternativos que consideraron la talla, la talla log-transformada, el índice de condición y el peso total como variables explicativas. Los mejores ajustes (menor AIC) fueron obtenidos para las variables peso y talla, sin embargo, la pendiente de la relación peso-contenido energético no fue significativamente distinta de cero. Los tests de interceptos y paralelismo para la variable talla, por su parte, indicaron diferencias significativas ($p < 0.01$) entre especies respecto de los interceptos, pero no así de las pendientes de sus respectivas regresiones ($p > 0.05$). De este modo, se ajustó y utilizó un modelo predictivo común para todas las especies de salmónidos (Tabla 40), definido en función de la longitud horquilla, y cuya expresión es,

$$ED_{ij} = \beta_j + \beta_1 \cdot LH_{ij}$$

donde,

ED_{ij} : densidad energética del individuo i perteneciente a la especie j ($J \cdot g^{-1}$)

β_j : intercepto correspondiente a la especie j (Tabla 40)

β_1 : pendiente (Tabla 40)

LH_{ij} : longitud de horquilla del individuo ij (cm)

El crecimiento individual fue predicho en intervalos diarios para cada especie utilizando el propio modelo bioenergético, condicionado para asegurar consistencia entre crecimiento observado (lectura de otolitos) y crecimiento predicho por especie y clase de edad.

Tabla 40: Parámetros del modelo predictivo de densidad energética ($J \cdot g^{-1}$) de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén (2009-2010) en función de la longitud horquilla (cm). β_1 representa la pendiente común, mientras que los suscritos SCH=salmón chinook, TCA=trucha café, SCO=salmón coho y TAA=trucha arcoiris denotan los distintos interceptos especie-específicos.

Parámetro	Valor estimado	EE	p>t	R ²	p>F
β_{SCH}	4736	830	<0.0001	0,98	<0,0001
β_{TCA}	3670	763	<0.0001		
β_{SCO}	4115	531	<0.0001		
β_{TAA}	4413	677	<0.0001		
β_j	65,6	24,5	<0.05		

Tabla 41: Parámetros del modelo predictivo de densidad energética en función del peso total de salmónidos de vida libre capturados en el Fiordo Aysén.

Especie	β_0 (EE)	β_1 (EE)
Salmón chinook	6207±130	1.1±0.40
Salmón coho	6278±194	0.8±0.40
Trucha café	4662±199	2.7±0.69
Trucha arcoiris	5705±201	1.8±0.31
Salmón del Atlántico ³	5705±201	1.8±0.31

2.3. Matriz de composición de presas a la talla y la edad

A partir de los resultados del desarrollo del objetivo específico 1, se generó matrices de composición de dietas por cada clase de talla y especie, en intervalos de talla de 1 cm. La matriz fue construida a partir de los valores predichos por modelos multinomiales ajustados para cada especie, siguiendo la expresión,

$$\log\left(\frac{P_{ij}}{P_{i1}}\right) = \beta_j + \gamma_j \cdot LH_i$$

³Parámetros asumidos como equivalentes a los estimados para trucha arcoiris

donde,

P_{ij} : proporción gravimétrica del ítem j en la observación i

P_{i1} : proporción gravimétrica del ítem de referencia 1 en la observación i

β_j : interceptos correspondientes a cada ítem j

γ_j : pendientes correspondientes a cada ítem j

La proporción gravimétrica de la matriz de composición de presas fue transformada en proporción calorimétrica multiplicando esta matriz por un vector de densidad energética obtenido combinando mediciones calorimétricas directas en laboratorio y valores de literatura (Tabla 42).

A partir de las predicciones del modelo calorimétrico y de la matriz de composición de presas, el consumo anual de un individuo perteneciente a la clase de talla l sobre la presa j ($J \cdot \text{año}^{-1}$) fue calculado mediante la expresión,

$$C_j = p_a \cdot \sum_{t=1}^{365} CP_{l,t} \cdot D_t$$

donde, p_a es la proporción del consumo potencial realizado para la correspondiente clase de edad a ; $CP_{l,t}$ es el consumo diario potencial de alimento para la talla l en el día t ; y D_t es la matriz de composición dietaria a la talla.

Las estimaciones directas de contenido energético de predadores (salmónidos), presas y gónadas fue realizada en el laboratorio de biología y ecología marina cuantitativa del Centro Trapananda, utilizando un microcalorímetro Parr 6725-EF. Cada muestra fue secada a 60°C por 72 horas o hasta peso constante y luego homogenizada para obtener tres réplicas para análisis calorimétrico, las que fueron posteriormente promediadas. Para la calibración del calorímetro se empleó pastillas de ácido benzoico (6.318 cal/g).

El contenido energético medio de las presas se obtuvo analizando muestras congeladas ya disponibles en el Centro Trapananda para juveniles de merluza de cola y sardina austral. Muestras adicionales de estas especies, así como también de pejerrey, robalo y otras presas potenciales fueron colectadas durante las campañas de terreno. El contenido energético de crustáceos y otras especies que no fue posible coleccionar fue aproximado utilizando valores medios publicados para el taxon más cercano disponible en la literatura (Tabla 42).

Tabla 42: Densidad energética estimada o asumida para las distintas presas incorporadas a la modelación bioenergética del impacto trófico de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysén (2003-2009). Valores medidos directamente por los autores o tomados de la literatura (ver fuente).

Presas	Densidad energética (J·g ⁻¹)	Fuente
<i>Agonopsis chilensis</i>	4718	Presente estudio (promedio de peces, excluidos clupeidos)
Amphipoda	3107	Ciancio et al.(2007)
<i>Aplochiton</i> sp.	4929	Presente estudio (promedio de peces, excluidos clupeidos)
Cirripedia	2908	Ciancio et al.(2007)
Crustacea	2811	Winberg (1971)
<i>Eleginops maclovinus</i>	5055	Presente estudio
<i>Engraulis ringens</i>	5553	Ciancio et al.(2007)
<i>Euphausia</i> sp	2507	Ciancio et al.(2007)
Gastropoda	4999	Ciancio et al.(2007)
<i>Hemigrapsus crenulatus</i>	2811	Winberg (1971)
Insecta	5794	Ciancio et al.(2007)
<i>Merluccius</i> sp	4363	Presente estudio
Myscidacea	2972	Ciancio et al.(2007)
Mollusca	2974	Ciancio et al.(2007)
<i>Munida gregaria</i>	2811	Winberg (1971)
<i>Nansenia</i> sp.	6027	Presente estudio
Nototheniidae	5055	Presente estudio
Octopoda	4953	Ciancio et al.(2007)
<i>Odontesthes regia</i>	6027	Presente estudio
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	6656	Presente estudio
Perciformes	4718	Presente estudio (promedio de peces, excluidos clupeidos)
Phosichthyidae	4718	Presente estudio (promedio de peces, excluidos clupeidos)
Polychaeta	4542	Ciancio et al.(2007)
Pycnogonida	5794	Ciancio et al.(2007)
<i>Sprattus fuegensis</i>	5284	Presente estudio
Stomatopoda	2811	Winberg (1971)
Xanthidae	2811	Winberg (1971)

2.4. Sobrevivencia

Dado que el período de estudio y los recursos asignados al proyecto no permitieron una estimación directa de las tasas de sobrevivencia de los salmónidos encontrados en el fiordo, se utilizó valores de literatura correspondientes a los rangos de distribución natural de estas especies.

2.5. Estimación de mortalidad natural a partir de modelos empíricos

En el presente estudio se utilizó valores de mortalidad natural similares a los estimados para el rango de distribución natural de los salmónidos presentes en el fiordo. Esto dado el gran nivel de incertidumbre existente acerca de la pertinencia de los llamados “modelos empíricos” generados por el meta-análisis de datos obtenidos por diferentes métodos, para múltiples ecosistemas y especies, donde predominan especies semélparas, cuyas historias de vida difieren sustancialmente de las especies de interés en el presente estudio. Sin perjuicio de lo anterior y para fines referenciales, se estimó la mortalidad natural de los salmónidos estudiados, en base a 4 modelos predictivos, representativos del desarrollo reciente de este tipo de aproximaciones: Alverson & Carney (1975), Pauly (1980), Hoenig (1983) y Gislason et al (2010)

2.6. Distribución y dispersión ontogenética de salmónidos (escapados y asilvestrados).

La distribución de salmónidos escapados y asilvestrados en el fiordo fue estimada directamente a partir de las campañas de muestreo directo. La dispersión ontogenética de salmónidos fue modelada en base a información disponible en la literatura, observaciones de distribución efectiva que se obtuvieron en el fiordo y a un estudio preliminar de migración a lo largo del gradiente salino, basado en la reconstrucción de la historia ambiental reflejada en el cociente de estroncio-calcio de otolitos sagitales de adultos asilvestrados de salmón chinook. Para estos últimos efectos se analizaron muestras procedentes de 15 individuos sub-muestreados en sentido ventro-dorsal mediante el método de ablación láser (Friedland et al. 1998). Este análisis fue efectuado en el laboratorio de la Dra. Jessica Miller (Universidad de Oregon, USA).

2.7. Tamaño poblacional de salmónidos escapados y de vida libre.

En la experiencia del equipo del proyecto, no existen aproximaciones efectivas para la evaluación directa de la abundancia de salmónidos de vida libre en el Fiordo Aysen. La conducta no gregaria de los salmones durante su permanencia en fiordos y canales ha hecho inviable su identificación por métodos hidroacústicos en 2006 y 2008 (Niklitschek & Hernández, com. pers.). Por otro lado, la abrupta topografía de la zona limita severamente el tipo de artes de captura y los lugares donde estos pueden ser desplegados, restando solidez a métodos basados en curvas de captura o depleción.

Considerando lo expuesto y ateniéndose a la oferta técnica, se reporta estimaciones de consumo anual de presas basadas en modelos individuales de consumo de alimento. El escalamiento de estos modelos individuales a modelos poblacionales se realizó de manera exploratoria, de acuerdo al siguiente modelo,

$$N_a = N_{a-1} \cdot e^{-M \cdot t} + O_{a-1} + E_{a-1} + R_{a-1}$$

donde,

- N_a : Número de individuos de vida libre de edad a
 N_{a-1} : Número de individuos de vida libre de edad $a-1$
 O_{a-1} : Número de individuos edad $a-1$ escapados en fugas operacionales durante el intervalo t
 E_{a-1} : Número de individuos edad $a-1$ escapados en fugas masivas durante el intervalo t
 R_{a-1} : Número de individuos de edad $a-1$ que emigraron(+) o inmigraron(-) desde/al fiordo como parte de su ciclo reproductivo

Las fugas operacionales fueron estimadas a partir de una tasa instantánea y constante, calculada como una función del número de individuos cultivados, a partir de las diferencias de inventario (entre siembra y cosecha), no explicadas por traslados, mortalidad o eliminación en un total de 100 jaulas de cultivo dentro de un período de 5 años. La tasa calculada representa un límite superior para la tasa real de fugas operacionales ya que las diferencias de inventario pueden incluir peces muertos y no contabilizados, depredación por lobos o aves y robos, entre otros. El valor estimado de esta tasa, aplicado en el modelo poblacional, alcanzó a $0.00025 \text{ d}^{-1} \pm 0,0000785$ (EE). De este modo, el número de peces escapados por cada intervalo t fue calculado como,

$$O_{a-1} = N_{a-1} \cdot e^{-0.00025t}$$

Las fugas masivas debido a eventos catastróficos fueron asumidas iguales a las reportadas por el Servicio Nacional de Pesca para el período modelado, 2003-2009 (Tabla 45).

Tabla 43: Eventos de escapes masivos de salmónidos de cultivo registrados en el Fiordo Aysén (2003-2009).

Año	Fecha	Sector	Número	Masa promedio (g)	Especie
2004	Mayo, 14	Bahía Chacabuco	2925	400	Salmón coho
2004	Julio, 1	Bahía Acantilada	2337000	900	Salmón coho y trucha arcoiris
2004	Julio, 1	Bahía Chacabuco	25000	6	Salmón coho
2007	Febrero, 25	Bahía Chacabuco	25000	20	Salmón coho
2007	Abril, 23	Camello	600000	62.34	Salmón coho
2007	Abril, 30	Bahía Chacabuco	80000	500	Salmón coho
2008	Abril,23	Camello	387000	67.66	Salmón del Atlántico

3. RESULTADOS

3.1. Estimación de mortalidad natural a partir de modelos empíricos

La aplicación de métodos empíricos basados en parámetros vitales para el cálculo de la mortalidad natural de los salmónidos de vida libre arrojó resultados notablemente dispersos (Tabla 44), entre 0,38 y 11,15 (año⁻¹), dependiendo de la especie y talla, con diferencias extremas superiores a un orden de magnitud entre los valores estimados para una misma especie y talla. Por estos motivos, estas estimaciones no fueron incorporadas en la modelación trófica poblacional (ver discusión).

Tabla 44: Mortalidad natural por especie y clase de edad estimada en base a métodos empíricos disponibles en la literatura. LH: promedio de longitud de horquilla por clase de edad, utilizado por el modelo de Gislason et al (2010).

Especie	Edad	LH	Alverson & Carney (1975)	Pauly (1980)	Hoenig (1983)	Gislason et al (2010)
Salmón chinook	1	17,5	0,377	1,165	0,869	5,204
	2	20,2	0,377	1,165	0,869	4,13
	3	58,3	0,377	1,165	0,869	0,75
	4	81,9	0,377	1,165	0,869	0,434
	5	86,7	0,377	1,165	0,869	0,396
Trucha café	1	17,5	0,184	1,827	1,082	1,575
	2	19,5	0,184	1,827	1,082	1,323
	3	28,3	0,184	1,827	1,082	0,727
	4	37,5	0,184	1,827	1,082	0,462
Salmón coho	0	15,0	0,772	1,611	1,435	11,146
	1	32,2	0,772	1,611	1,435	3,258
	2	50,3	0,772	1,611	1,435	1,589
	3	60,0	0,772	1,611	1,435	1,196
Trucha arcoiris	1	28,3	0,755	1,723	1,435	2,462
	2	47,0	0,755	1,723	1,435	1,088
	3	44,3	0,755	1,723	1,435	1,197

3.2. Estado trófico y tasas individuales de consumo de alimento

Los salmónidos de vida libre presentes en el Fiordo Aysén durante el período de estudio presentaron un índice de estado trófico (p) promedio entre 0,49 y 0,77. En otras palabras, estos individuos fueron capaces de obtener desde el fiordo entre un 49 y un 77% de la máxima tasa de consumo de alimento posible de alcanzar dadas sus restricciones

fisiológicas y la temperatura del fiordo (Tabla 41). Los mayores valores de p fueron estimados para las dos especies asilvestradas: salmón chinook y trucha café, mientras que los valores más bajos, todos en torno a 0,5, correspondieron a las especies cuyo origen mayoritario se encontraría en escapes desde centros de cultivo: salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico.

Las estimaciones de consumo individual promedio para los salmónidos de vida libre presentes en el Fiordo Aysén (2003-2009) fue estimado en un rango entre 12,8 y 121,4 g ($66-583 \text{ kJ}\cdot\text{dia}^{-1}$), con los mayores valores estimados para salmón coho y los menores para salmón del Atlántico (Tabla 41). En el caso de los peces escapados, estos valores fueron sensibles tanto a las condicionantes ambientales y fisiológicas de cada especie, como a la talla media de los individuos escapados desde los centros de cultivo (2003-2009) y a la tasa de mortalidad natural asumida para cada especie.

Tabla 45: Valores estimados del índice de estado trófico y consumo por recluta en unidades de energía (J) y masa (g), correspondientes a salmónidos de vida libre capturados en el Fiordo Aysén entre 2008 y 2010.

Especie	Estado trófico promedio (p)	Consumo individual promedio ($\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)	Consumo individual promedio ($\text{kJ}\cdot\text{dia}^{-1}$)
Salmón coho	0,51	46,5	186,9
Trucha arcoiris	0,49	26,6	98,7
Salmón del Atlántico	0,53	12,8	66,2
Salmón chinook	0,77	121,4	583,2
Trucha café	0,63	40,7	210,1

Al desagregar el consumo total estimado por recluta entre las principales taxa consumidas por cada especie (Tabla 46) fue posible estimar que las presas sujetas a mayor presión depredadora de parte de los salmónidos de vida libre presentes en el fiordo corresponderían a sardina austral, pez linterna, pejerrey y crustáceos. Trucha café, salmón del Atlántico y salmón coho mostraron altos niveles de consumo potencial sobre sardina austral, mientras que pez linterna y pejerrey serían principalmente consumidos por salmón chinook y, secundariamente por salmón coho (Tabla 46). Trucha café y salmón del Atlántico corresponderían a especies esencialmente piscívoras; los crustáceos representaron una fracción muy relevante del consumo individual en las tres especies restantes.

La abundancia estimada de salmónidos de vida libre escapados desde centros de cultivo (salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico) presentó grandes fluctuaciones a lo largo del período evaluado (Figuras 47, 48, y 49), respondiendo al efecto de los eventos de escapes masivos (catástrofes) registrados en 2004, 2007 y 2008 (Tabla 45). La probabilidad media de estos eventos en centros de mar, ubicados al sur de Puerto Montt, fue estimada igual a $0,058 \text{ centro de cultivo}^{-1}\cdot\text{año}^{-1} \pm 0,0051$ (EE), para el período 1993-2009. La abundancia promedio de estos eventos para la misma área y período alcanzó a 81.460

ind-evento⁻¹ ± 232.470 (DS), mientras que la masa promedio de los individuos escapados llegó a 1121 g ± 1166 (DS).

Tabla 46: Valores estimados del consumo individual de los principales ítemes alimentarios identificados en los estómagos de las especies de salmónidos de vida libre capturados en el Fiordo Aysén. Sólo la clase Actinopteyigii ha sido desagregada en taxa menores (familia, orden o especie).

Presas	Depredadores				
	Salmón chinook	Salmón coho	Salmón del Atlántico	Trucha arcoiris	Trucha café
Acorazados (<i>Agonopsis chiloensis</i>)	<0.001	0.002	<0.001	<0.001	<0.001
Peladilla (<i>Aplochiton</i> sp)		0.002	<0.001	<0.001	<0.001
Crustacea	18.386	26.563	0.003	18.228	0.005
robalo (<i>Eleginops maclovinus</i>)			0.112		0.206
Insecta	0.001	0.011	<0.001	4.09	<0.001
Merluza del sur (<i>Merluccius australis</i>)	1.193		<0.001		<0.001
Mollusca	4.941	0.382	0.7		2.285
Nototenidos (Nototheniidae)	0.001	0.178	0.099	<0.001	0.176
Pejerrey (<i>Odontesthes regia</i>)	41.355	10.747		1.48	
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)			0.074		0.114
Perciformes sin identificar.	<0.001		<0.001		<0.001
Pez linterna (Phosichthyidae)	54.887	0.121		0.011	
Polychaeta	<0.001	0.275	0.001		0.001
Sardina austral (<i>Sprattus fuegensis</i>)	0.636	8.235	11.843	2.807	37.959
Total	121.4	46.516	12.832	26.616	40.746

La abundancia asumida de los salmónidos asilvestrados (salmón chinook y trucha café) alcanzó niveles máximos y estables de 64000 individuos de salmón chinook en enero de cada año y de 85000 individuos de trucha café en diciembre de cada año (Figuras 50 y 51). Dado el ciclo de vida de estas especies, la mayor presión trófica sobre el ecosistema correspondería a la ejercida en su etapa de migración reproductiva, la que se concentraría más fuertemente en la primera mitad de cada año.

Al cruzar las tasas de consumo individual y las abundancias proyectadas para cada especie, talla y día de modelación fue posible estimar niveles de consumo altamente variable entre y dentro de las especies depredadoras (Figuras 47-51). Los mayores consumos, cercanos a 2000 ton mensuales correspondieron a los estimados para salmón coho durante enero 2006

(Figura 47). En contraste, el consumo mensual promedio de esta misma especie durante el mismo mes de enero no superaría 40 ton en años no afectados por escapes masivos. Los menores impactos estimados para el período correspondieron a salmón del Atlántico, salmón chinook y trucha café, los cuales no superaron las 75 ton de presas consumidas en ninguno de los meses incluidos en el modelo.

Al sumar los consumos diarios totales de todas las especie a lo largo de los años del período, se estimó un consumo promedio de 11.245 ton·año⁻¹, con valores mínimos de 813 ton en 2003, y máximos de 13.960 ton en 2008. Las principales taxa consumidas durante el período modelado correspondieron a crustáceos (6.300 ton·año⁻¹), pejerrey (2.150 ton·año⁻¹) y sardina austral (1.950 ton·año⁻¹). El consumo promedio estimado de merluza austral alcanzó a 60 ton·año⁻¹.

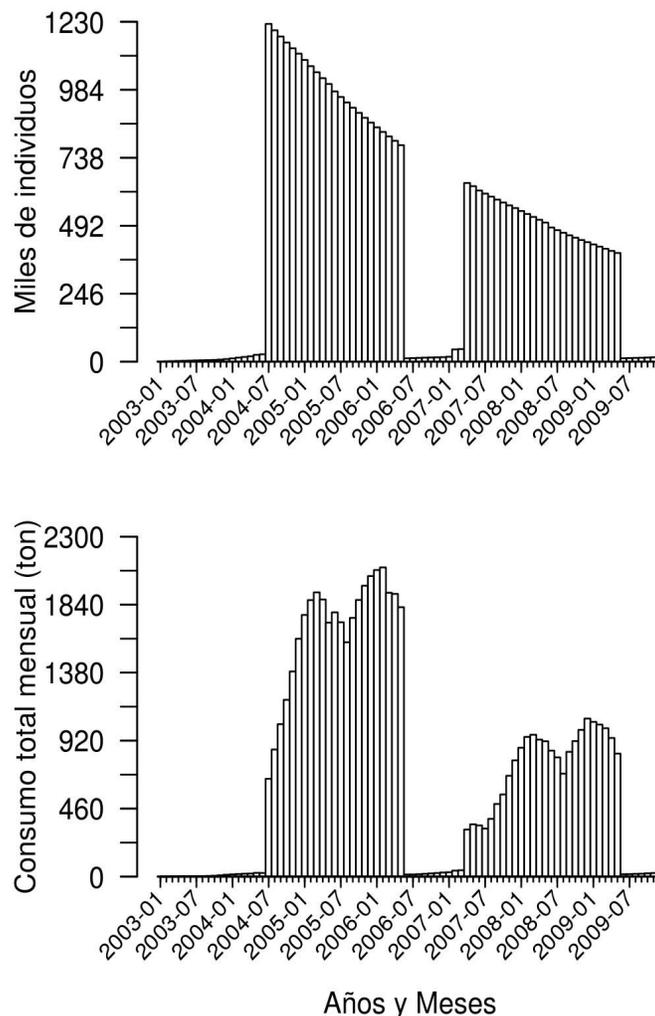


Figura 47: Abundancia (panel superior) y consumo total de presas por mes (panel inferior) estimados para salmón coho de vida libre en el Fiordo Aysén 2003-2009.

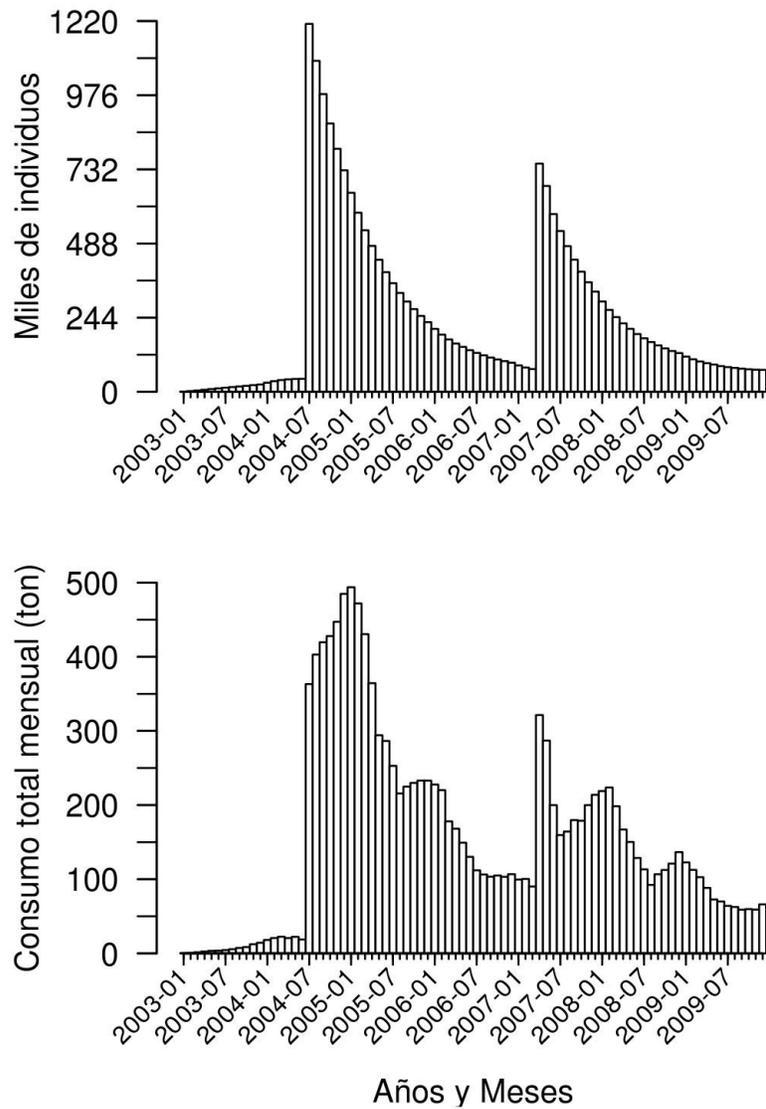


Figura 48: Abundancia (panel superior) y consumo total de presas por mes (panel inferior) estimados para trucha arcoiris de vida libre en el Fiordo Aysén 2003-2009.

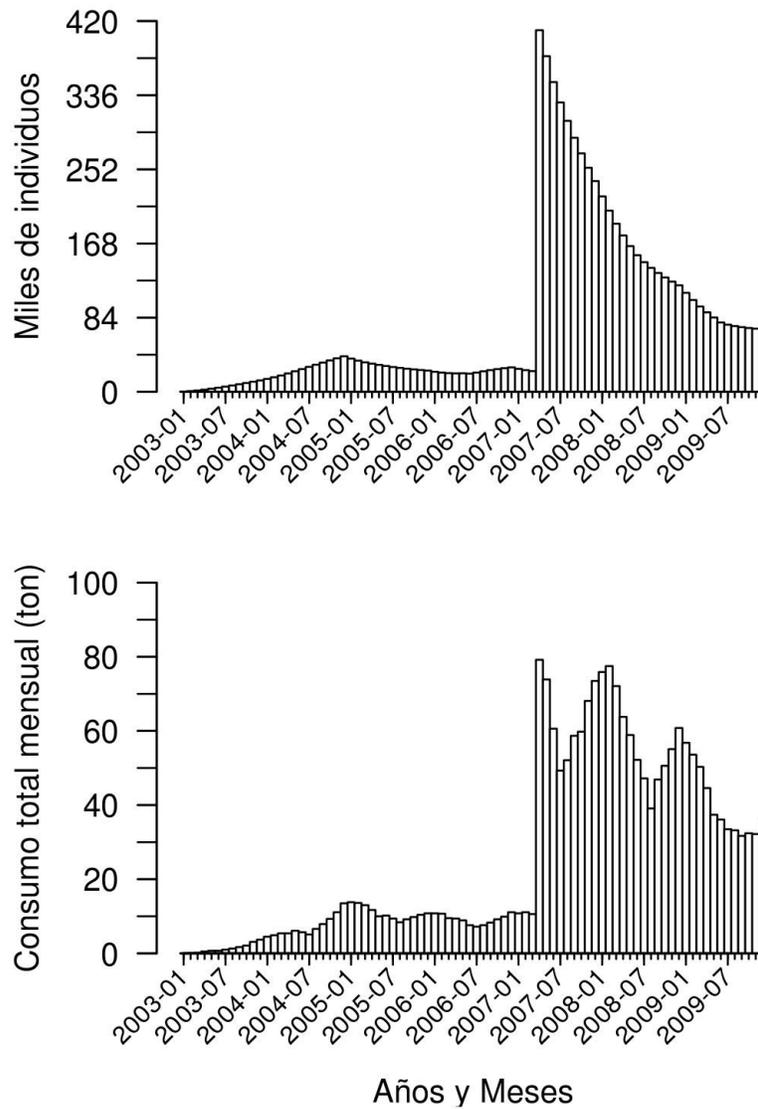


Figura 49: Abundancia (panel superior) y consumo total de presas por mes (panel inferior) estimados para salmón del Atlántico de vida libre en el Fiordo Aysén 2003-2009.

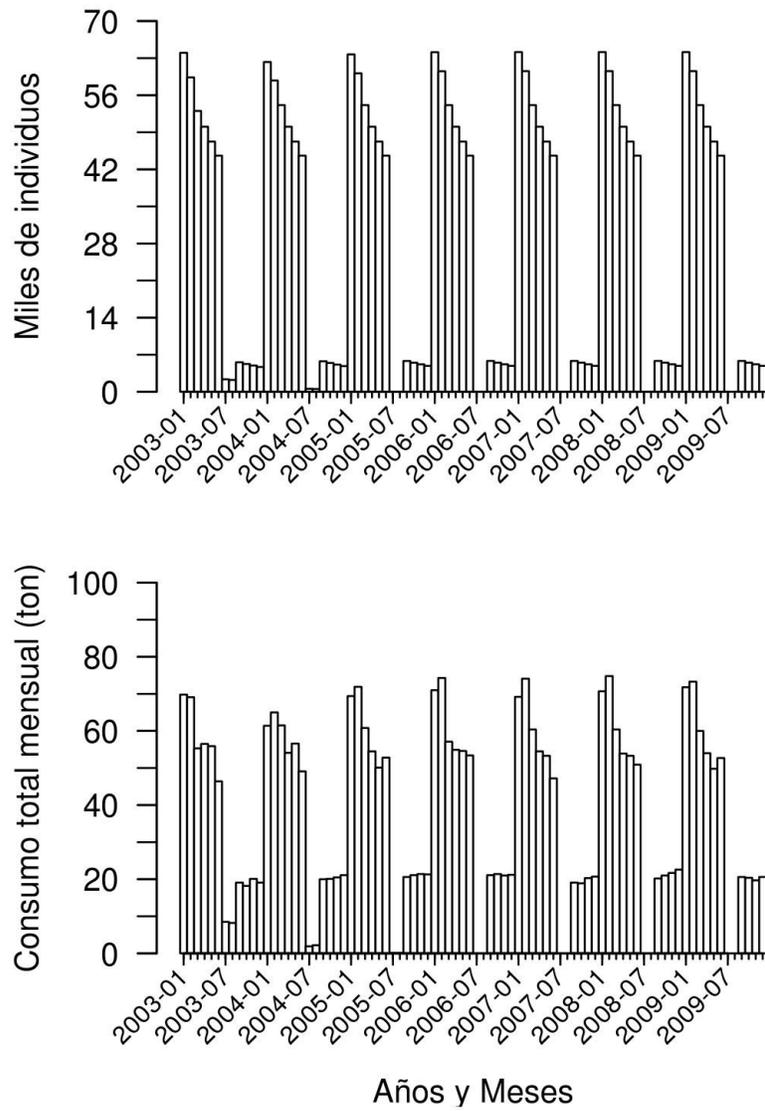


Figura 50: Abundancia (panel superior) y consumo total de presas por mes (panel inferior) estimados para salmón chinook de vida libre en el Fiordo Aysén 2003-2009.

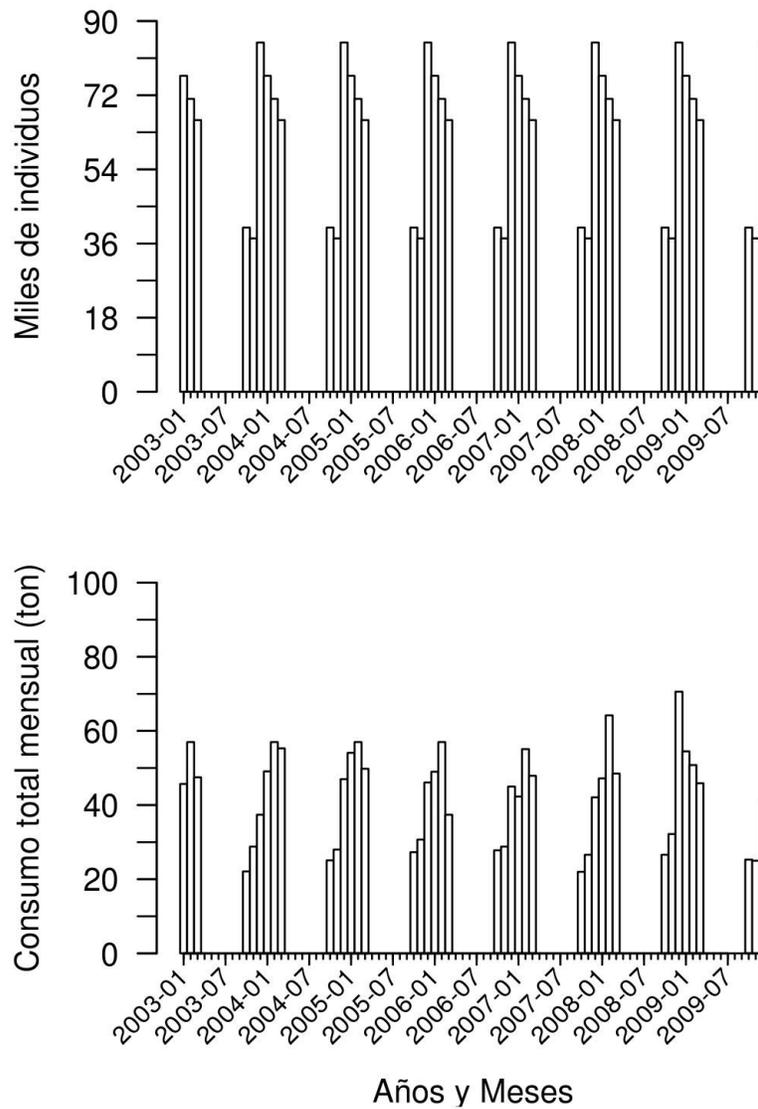


Figura 51: Abundancia estimada (panel superior) y consumo total de presas por mes (panel inferior) estimados para trucha café de vida libre en el Fierdo Aysén 2003-2009.

Tabla 47: Mediana y cuartiles de la distribución de consumos totales anuales promedio (2003-2009) de ítemes alimentarios identificados en los estómagos de salmónidos de vida libre capturados en el Fiordo Aysén. Sólo clase Actinopteyigii desagregada en taxa menores (familia, orden o especie).

PRESA	Salmón chinook	Salmón coho	Salmón del Atlántico	Trucha arcoiris	Trucha café	Total
Acorazados (<i>Agonopsis chiloensis</i>)	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Peladilla (<i>Aplochiton</i> sp)		<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Crustacea	67,0	4947,5	<0,1	1319,9	<0,1	6334,4
robalo (<i>Eleginops maclovinus</i>)			2		9,7	11,7
Insecta	<0,1	<0,1,1	<0,1	453,5	<0,1	453,6
Merluza del sur (<i>Merluccius australis</i>)	59,1		<0,1		<0,1	59,1
Mollusca	8,5	51,3	16,5		12,5	88,8
Nototenidos (Nototheniidae)	<0,1	1,6	1,2	<0,1	8,5	10,3
Pejerrey (<i>Odontesthes regia</i>)	133,0	1997,4		21,5		2151,9
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)			<0,1		6,1	6,1
Perciformes sin identificar.	<0,1		<0,1		<0,1	<0,1
Pez linterna (Phosichthyidae)	145,9	3,2		1,1		149,2
Polychaeta	<0,1	36,4	<0,1		<0,1	36,4
Sardina austral (<i>Sprattus fuegensis</i>)	32,4	1364,6	284	42,2	220,4	1943,6
Total	445,9	8401,1	303,7	1837,2	257,2	11245,1

4. DISCUSIÓN

Los resultados aquí presentados indican la existencia de una presión trófica significativa de los salmónidos de vida libre sobre el ecosistema del Fiordo Aysén en años recientes. La magnitud estimada de esta presión, no obstante, resulta altamente sensible a la frecuencia, magnitud y características generales de los eventos de escape masivo que han ocurrido en el fiordo y cuyo conocimiento es, probablemente, parcial.

Respondiendo a la desigual composición de especies y tallas entre los eventos de escapes registrados históricamente, el impacto trófico estimado difiere notablemente entre las distintas especies de salmónidos y carece de proporcionalidad respecto de su importancia relativa en términos de producción o cosecha. De este modo, los mayores impactos del período modelado (2003-2009) fueron atribuidos a salmón coho, cuyos consumos anuales promedio excedieron en unas 25 veces a los consumos estimados para salmón del Atlántico,

la especie que, siendo la más abundante en las cosechas, habría ejercido la menor presión trófica sobre el ecosistema del fiordo.

El consumo anual promedio estimado para los peces escapados en el Fiordo Aysén se eleva por sobre 10.000 ton, lo que supera el desembarque artesanal de peces en toda la Región de Aysén (7.252 ton en 2009). Sin embargo, en años sin escapes masivos, esta cifra se vio reducida a sólo un 8% del valor señalado, lo cual resalta la necesidad de incrementar las medidas preventivas para reducir la probabilidad de tales eventos. A lo anterior, es necesario sumar medidas que controlen mejor las pérdidas operacionales (no catastróficas), asociadas, principalmente, a cambio de redes, ataque de lobos y rotura de redes.

Dado que ninguna de las especies cultivadas en el fiordo: salmón del Atlántico, trucha arcoiris y salmón coho ha formado, hasta ahora, poblaciones asilvestradas auto-sustentables, es posible considerar que los impactos descritos son todavía reversibles. El potencial de asilvestramiento, no obstante, permanecerá latente y su riesgo aumentará en la medida que se produzcan nuevos escapes masivos u operacionales. Los impactos ecosistémicos de nuevas introducciones son muy difíciles de predecir, así como también las consecuencias de su posterior extirpación que aún siendo viable pueden conducir a nuevos equilibrios aún menos deseables (Vigliano et al. 2007).

Aún cuando las principales presas consumidas por los salmónidos escapados: sardina austral, pejerrey y crustáceos plantónicos, poseen una importancia relativamente baja para los pescadores de la zona, estas especies son de evidente importancia para la trama trófica del fiordo. De este modo, los salmónidos de vida libre se transforman en competidores directos de otros consumidores terciarios que si poseen gran relevancia para las economías locales de la zona. Este es precisamente el caso de la merluza austral, especie- objetivo de la mayoría de los pescadores del área.

Los índices de estado trófico de los salmónidos escapados 0,49-0,53 reflejan una eficiencia relativamente baja como cazadores libres, capturando apenas un 50% de la dieta esperable para su talla dadas las condiciones de temperatura del estuario. Los niveles indicados corresponden a dietas levemente mayores a las dietas estimadas de mantención para estas especies, las que se encontrarían en torno a 0,38. Como resultado, los peces escapados presentan un crecimiento notablemente menor que el esperado bajo condiciones de cultivo y bajo las condiciones naturales de sus ecosistemas de origen. El estado trófico estimado para los salmónidos escapados contrasta con el estimado para los salmónidos asilvestrados, salmón chinook y trucha café, los que alcanzan valores en torno a 0,7, similares a los estimados en sus ecosistemas de origen.

El presente trabajo corresponde a un nuevo esfuerzo por cuantificar el impacto trófico de los salmónidos de vida libre asilvestrados o escapados en el sur de Chile. Esfuerzos anteriores (O’Ryan et al. 2006; Barría 2009) presentaron en general mayores limitaciones de datos y debieron recurrir a un mayor número de supuestos que en el presente proyecto. En este sentido, el trabajo aquí reportado logró avances importantes en términos de estimar el estado trófico de las distintas especies de salmónidos, sus tasas de consumo individual, densidad energética de predadores y presas, composición de dietas y estructura de tallas de los individuos presentes a lo largo de un período observado de 2 años y un período modelado de 7 años (2003-2009).

Mientras que las tasas de consumo individual obtenidas por el presente trabajo pueden ser consideradas como relativamente robustas, su expansión a nivel poblacional y ecosistémico enfrentó importantes limitaciones de información, las que obligan a tomar estos resultados con cautela y dicen relación con cinco aspectos principales:

- Abundancia.
- Mortalidad natural.
- Estructura de tallas
- Edad y crecimiento
- Composición de dietas.

4.1. Abundancia

Ni en esta área de estudio, ni en ninguna zona del mar interior patagónico existen estimaciones directas de abundancia de las distintas especies de salmónidos. Este vacío cuantitativo obedece, principalmente, a las dificultades metodológicas de cuantificar especies que no forman cardúmenes susceptibles de ser evaluados por métodos acústicos o de área barrida. Las opciones de cuantificación directa tradicionalmente disponibles para este tipo de poblaciones se orientan a poblaciones asilvestradas y se basan en una o más de las siguientes aproximaciones: (i) conteo visual o acústico de reproductores durante los procesos migratorios de retorno hacia sus sitios natales en agua dulce, (ii) conteo de juveniles en zonas de crianza o rutas migratorias de salida al mar, y (iii) conteo de reproductores, nidos o carcazas en zonas de desove.

Dado que ninguna de las metodologías señaladas resulta adecuada para la evaluación directa de la abundancia de los salmónidos escapados, es imprescindible mejorar la calidad de los registros de escapes, tanto operacionales como catastróficos. Esta tarea debe ser llevada a cabo comprendiendo que ella proporciona la principal y tal vez única fuente de información sobre la abundancia inicial de estas especies en el ecosistema. Es así como la exactitud de los resultados del presente estudio, respecto de las tres especies cultivadas en el fiordo, depende directamente de la exactitud de los registros de eventos catastróficos de escape masivo proporcionados por el Servicio Nacional de Pesca.

En el caso de las dos poblaciones asilvestradas, salmón chinook y trucha café, no se cuenta con la opción de registros oficiales. En contraste, se cuenta con la posibilidad de aplicar uno o más de los métodos de evaluación directa antes identificados, pudiéndose llegar a estimar la abundancia absoluta de retornantes por métodos directos y/o a modelar la probable abundancia de juveniles por métodos indirectos. En el presente proyecto se evaluó una de las metodologías disponibles para el conteo directo de reproductores obteniendo resultados favorables y mostrando la factibilidad de utilizar métodos video-acústicos para este propósito. La cuantificación del total de pulsos migratorios que ingresan al conjunto de tributarios asociados al fiordo requeriría, no obstante, de esfuerzos notablemente mayores en términos de recursos físicos y financieros.

Ante la ausencia de registros cuantitativos y estimaciones de abundancia total, la expansión poblacional de las tasas de consumo individual de las especies asilvestradas (salmón

chinook y trucha café) deben ser consideradas como meramente referenciales. Cualquier uso cuantitativo de estos valores requeriría de nuevas estimaciones basadas en el tamaño efectivo de las poblaciones de estas especies.

4.2. Mortalidad.

Aun teniendo la mejor información posible sobre la magnitud de las cohortes ingresadas al fiordo, ya sea como consecuencia de los escapes o de los procesos de reclutamiento natural, resulta imprescindible conocer o asumir las tasas de sobrevivencia que dichas cohortes experimentarían en el medio natural. Esto como requisito esencial para proyectar su abundancia en el tiempo. La estimación de la mortalidad natural no es un tema trivial en pesquerías, y puede llegar a constituirse en una fuente sustancial de incertidumbre (Vetter 1988). La disparidad de las estimaciones de mortalidad natural obtenida aplicando los diferentes métodos empíricos muestra la inconveniencia de usar estos mismos para los fines del presente estudio. Los problemas inherentes a estas aproximaciones se agravan en el presente caso a partir de dos elementos principales. En primer lugar, tanto salmón chinook como salmón coho son especies semélpas, cuya sobrevivencia cae a cero cuando alcanzan su madurez reproductiva. En segundo lugar, es esperable que el parámetro de crecimiento individual K de salmón coho y trucha arcoiris se vea afectado por el crecimiento acelerado de los individuos muestrados, de manera previa a su escape de las balsas-jaulas. Estos valores elevados de K podrían explicar los altísimos valores de mortalidad predichos para la edad 0 por el modelo de Gislason et al (2010).

La limitada aplicabilidad atribuida a los modelos predictivos de mortalidad natural conlleva necesariamente a un elevado nivel de incertidumbre sobre los impactos tróficos de los salmónidos de vida libre en este fiordo y en Chile. De este modo, obtener valores más adecuados para este parámetro resulta una cuestión fundamental pero de muy difícil resolución. En lo inmediato, sólo la simulación y comparación de escenarios plausibles y alternativos de mortalidad natural permitirán aproximarse a los posibles efectos tróficos de estas especies sobre la fauna nativa del fiordo. En el presente análisis, asumimos tasas de mortalidad natural equivalentes a las reportadas para los ecosistemas de origen de las especies modeladas y tasas nulas de mortalidad por pesca, lo que parece razonable dado el bajo nivel de operaciones de pesca con redes de enmalle en el fiordo.

4.3. Estructura de tallas

Las tasas de consumo individual son modeladas como una función alométrica de la talla y resultan, por lo tanto, altamente sensibles a la estructura de tallas observada o proyectada para la población modelada. Las estimaciones de las estructuras de talla obtenidas a partir del muestreo de las poblaciones de interés resultan, por su parte, muy sensibles a la selectividad de las artes de pesca, particularmente a la de las redes de enmalle, artes reconocidamente selectivas. En el presente trabajo estimamos factores de corrección para cada tamaño de red y los aplicamos sistemáticamente a la re-construcción de las estructuras empíricas de talla generadas por el muestreo.

Asumiendo una adecuada compensación de los sesgos causados por la selectividad del arte de muestreo, permanecen problemas potenciales respecto de la confiabilidad de las

estructuras de tallas derivadas de los muestreos donde la abundancia por especie y campaña llegó en ocasiones a sólo unos pocos individuos. A ello se suma la incertidumbre sobre la representatividad de las zonas de muestreo respecto del área total del fiordo, ya discutida en el Capítulo 1 del presente informe.

4.4. Edad y crecimiento

Como fuera discutido en el Capítulo 1, el supuesto de periodicidad anual en la formación de anillos empleado para la asignación de edades a las muestras de otolitos y escamas utilizadas para la construcción de claves edad-talla y modelos de crecimiento, no se encuentra directamente validado para salmónidos de vida libre en Chile. Aunque existen importantes sustentos empíricos a dicho supuesto, se debe considerar que tanto las estimaciones individuales como poblacionales de la presente modelación resultan sensibles a un eventual error de especificación de la edad. Esto, principalmente, a través de la posible sobre o sub-estimación del tiempo transcurrido entre dos momentos determinados de la historia de crecimiento individual de los organismos modelados. En general, una sub-estimación de las tasas de crecimiento lleva a sobre-estimar las tasas de consumo de alimento, toda vez que los costos de mantención se extienden por un período más largo. La situación inversa ocurre cuando se incurre en un error sistemático de sobre-estimación del crecimiento.

4.5. Dieta

Las dificultades de muestreo de los salmónidos de vida libre presentes en el fiordo y la baja proporción de estómagos con contenido obligó a agrupar campañas y grupos de talla dentro de especies. De esta manera, es necesario desarrollar nuevos esfuerzos destinados a corroborar la composición de dietas estimadas para las especies de interés y a complementar esta información con la proporcionada por aproximaciones alternativas como isótopos estables y ácidos grasos, las que permiten integrar de mejor manera la historia reciente de consumo de alimento, en un horizonte de semanas o meses, y son menos sensibles a problemas de regurgitación y digestión del contenido estomacal. Otro aspecto importante de abordar en el mediano plazo, es la necesidad de profundizar la evaluación de la magnitud y sentido de los cambios ontogenéticos que ocurren en los hábitos alimentarios de las especies estudiadas.

En síntesis, el presente capítulo avanza sustantivamente en el desarrollo de un marco teórico y en la modelación de los impactos tróficos individuales y poblacionales de los salmónidos de vida libre presentes en el Fiordo Aysén. Este modelo es potencialmente aplicable a otros cuerpos de agua con presencia de estas especies en el sur de Chile. Como en todo modelo, la calidad de las salidas depende directamente de la calidad de las entradas. En este sentido, existe un número importante de supuestos de trabajo y variables de entrada, que requieren de ser revisados o validados como parte del desarrollo natural del modelo. Esperamos que la revisión de estos supuestos y sus posibles consecuencias, efectuada en los párrafos precedentes, motive y sea vista, principalmente, como una agenda de trabajo y no como un listado de críticas invalidantes a la aplicabilidad del modelo desarrollado.

III. Información sobre siembras de salmónidos en el ambiente natural e incidencia de escapes desde centros de cultivo en la Región de Aysén, referenciada geográficamente (objetivo 3)

Eduardo Aedo, Universidad Austral de Chile

1. HISTORIA DE SIEMBRAS DE SALMÓNIDOS EN AYSÉN.

1.1. Introducción

Al igual que en otros países del hemisferio sur, la introducción de salmónidos a Chile, tuvo por objetivo inicial fomentar la pesca recreativa. Posteriormente, a partir de la década de 1970, el objetivo fue el cultivo extensivo (“ranching”) e intensivo en jaulas flotantes (Davidson & Hutchinson 1938; Welcome 1988; Soto et al. 2001). FAO (1982a) describe un total de 10 especies de salmónidos introducidos a Chile a lo largo de su historia, de las cuales pocas han logrado adaptarse y mantener en la actualidad, poblaciones en aguas continentales. Su dispersión ha estado subsidiada por programas gubernamentales y privados de siembra y re-poblamiento masivos, y su habilidad para colonizar espontáneamente nuevos territorios (Basulto 2003; Soto et al. 2006).

A las dos primeras especies introducidas en el siglo antepasado (trucha café, *Salmo trutta* Linnaeus, 1758) y trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) se sumaron, durante las últimas tres décadas, al menos otras cinco especies de salmónidos (FAO 1982b) (FAO, 1982a). Las dos especies de distribución más amplia, son precisamente, las primeras introducidas en el país; actualmente grandes poblaciones se encuentran al sur de Chile desde 36°S (Soto et al. 2006). Estas especies concentran la preferencia y las capturas de los pescadores deportivos, por lo que son la base de una importante actividad turística nacional e internacional en la zona sur y austral de Chile (Niklitschek & Aedo 2002).

En la actualidad las especies de salmónidos asociadas a la acuicultura, pertenecen a los géneros *Oncorhynchus* (*O. mykiss*, *O. kisutch*, *O. tshawytscha*) y *Salmo* (*S. salar*) (SERNAPESCA 2010). Esta industria ha tenido un crecimiento exponencial desde comienzos de la década de 1980 (Vergara 2003). La alta rentabilidad del sector llevó a esta industria a expandirse desde la zona central del país hasta el extremo austral, a través de la creación de centros de crianza y de engorda. Hasta antes de la crisis que enfrenta el sector, su producción llegó a más de 700 mil toneladas con ingresos cercanos a los US\$2.206 millones (SalmónChile 2006).

El rápido crecimiento de la producción, asociado a la proliferación de sitios de cultivo tanto en agua dulce como marinos, ha facilitado la naturalización de varias especies producto de escapes (Soto et al. 2001). El éxito de este asilvestramiento se suma al producido a consecuencia de la liberación masiva (siembras) y sistemática de salmónidos a sistemas naturales, ocurridos desde finales de la década de 1970 (Basulto 2003). Como resultado de estos dos procesos, se ha verificado la existencia asilvestrada de al menos dos especies de salmónidos anádromos. Salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) que está presente en

cuencas andinas y transandinas de la Patagonia (Pascual & Ciancio 2007; Correa & Gross 2008), incluyendo las cuencas más importantes de la Región de Aysén (Niklitschek & Aedo 2002) y al menos en una cuenca (Río Prat) de la Región de Magallanes (Correa & Gross 2008). Por su parte, salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), ha sido reportado en las regiones de Los Lagos y Aysén, desde mediados de los años 90 (Soto et al. 2001).

1.2. Materiales y métodos.

Como una forma de enriquecer el presente objetivo y considerando su amplio rango de distribución asilvestrada, se optó por ampliar la búsqueda y análisis de la información, hacia iniciativas de importación de ovas y siembra de salmón chinook. Gracias a las fuentes consultadas fue posible discriminar para la especie, entre importaciones potenciales y efectivas en el periodo febrero de 1977 y mayo de 2000, último año que se registran importaciones de esta especie.

Por su parte, el estudio contemporáneo de siembras de éste y otros salmónidos, abarcó desde antes de la creación de la Subsecretaría de Pesca en 1976 hasta el año 2008. La información recopilada hace referencia a introducciones y siembras efectuadas entre los 41° y 54°S, zona que históricamente ha concentrado la actividad productiva de estas especies.

1.2.1. Bases de datos

Se consultó las bases de datos de importaciones de ovas, siembra y emprendimientos de crianza de salmónidos del Departamento de Acuicultura de la Subsecretaría de Pesca. Esta base concentra y resume las resoluciones de autorización de cada tipo de iniciativa desde 1977 en adelante. Esta información fue complementada mediante la transcripción de información disponible, sólo en formato impreso, en el archivo de esta institución. Para importaciones, se analizaron todas las resoluciones de autorización existentes (#72), además de las respectivas solicitudes remitidas por las empresas peticionarias. Estos registros, que incluían en algunos casos la autorización para efectuar siembras, comprendían el periodo de noviembre de 1979 a mayo de 2000. La segunda fuente de información provino de los archivos de autorización de ingreso de ovas al país efectivamente ejecutados, registrados por el Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA) entre los años 1987 a 2000. Las variables registradas en la Subsecretaría de Pesca y SERNAPESCA para importaciones y siembras se muestran en la Tabla 48. La información proveniente de estas dos fuentes, fue contrastada entre sí, a fin de determinar las iniciativas potencialmente realizadas y las efectivamente ejecutadas. De esta forma, no se desechó la posibilidad que actividades no registradas oficialmente o registradas como potenciales, hayan sido efectivamente ejecutadas.

1.2.2. Entrevistas

Las entrevistas permitieron generar información sobre importación de ovas con fines de liberación, para el periodo previo a la creación de la Subsecretaría de Pesca en 1976. Los datos fueron recogidos desde personas y entidades públicas y privadas asociadas directamente a las primeras iniciativas contemporáneas de liberación para “ranching” en la Región de los Lagos, de Aysén y de Magallanes (Tabla 49).

Tabla 48: Variables recogidas desde bases de datos digitales e impresas y entrevistas.

Importación	Siembras
Número y fecha de Resolución de autorización	Número y fecha de Resolución de autorización.
Número de ovas.	Región, comuna, centro de cultivo y curso de agua destino de las ovas.
Empresa importadora.	Estado, ciudad y centro de cultivo de origen de ovas.
Región, comuna y centro de cultivo destino de las ovas	Nombre del proveedor de ovas.
Estado, ciudad y centro de cultivo de origen de las ovas a importar.	Coordenadas de puntos de siembra.
Nombre del proveedor de ovas.	
Coordenadas de centros de destino de ovas importadas	

Tabla 49: Entrevistas sobre introducción y siembras de salmón chinook en Chile, previo a la creación de la Subsecretaría de Pesca.

Entrevistado	Entidad a la que perteneció	Fecha entrevista	Información proporcionada
Sergio Basulto	División de Pesca y Caza (1967)	20 jun. 2005	Origen ovas introducidas a Chile.
Vladimir Aguilar	Pesquera Popetan Ltda. (1978)	10 mar. 2006	Confirma liberación de salmón coho y chinook desde Lago Popetan, Isla de Chiloé.
Irma Vila	División de Pesca y Caza (1978)	10 Jul. 2005	Origen ovas de salmón chinook introducidas al Río Prat, Magallanes.
Jorge Ruiz	Instituto de Fomento Pesquero, Aysén (1980)	24 Nov. 2005	Se descarta liberaciones de salmón chinook en Aysén.
Manuel Barros	Fundación Chile (1981)	05 Jun. 2008	Confirma liberación de salmón chinook en Río Santa María, Magallanes (1981-1982). Retornos (jacks) 1983.
Cristian Jélvez	Fundación Chile (1982)	17 Jun. 2005	Confirma número de ovas liberadas en Río Prat, Magallanes.
Fredy Carrasco	Fundación Chile (1986)	25 Nov. 2005	Origen ovas de salmón chinook introducidas a Río Prat, Magallanes.
Carlos Arriagada	Ventisqueros Ltda (1987)	28 Oct. 2005	Origen ovas de salmón chinook introducidas a Pichicolo, Hualaihue y Chaqueihua
Guillermo Staudt	Los Fiordos Ltda. (1989)	15 Nov. 2005	Confirma cultivos de salmón chinook en Aysén, Isla Magdalena e Isla Tortuga.

1.3. Resultados

1.3.1. Importación de ovas de salmón chinook.

i. Importación potencial

Entre febrero de 1977 y mayo de 2000, fueron 27 empresas las autorizadas a importar un total de 41 millones de ovas. Al 50% de ellas (entre el primer y tercer cuartil) se les aprobó entre 205.000 y 1.545.000 ovas. El periodo de mayor concentración de solicitudes se produjo entre 1988 y 1992, con un promedio anual de nueve solicitudes favorablemente resueltas. A partir de 1994, las resoluciones de autorización se redujeron significativamente, promediando hasta el año 2000 (último año en que se autorizan importaciones de la especie), 640 mil ovas por año. A partir de 1990, las autorizaciones de importación de ovas tuvieron por objetivo proveer a centros de cultivo que estaban operando bajo sistemas cerrados.

Veinticinco empresas importadoras declararon como destino de las ovas la Región de Los Lagos, las dos restantes lo hicieron a la Región de Aysén (Pesquera Los Fiordos Ltda., Isla Magdalena a fines de la década de 1980 e inicios de 1990) y Región de Magallanes (Domsea Pesquera Chile Ltda., Río Santa María y Salmones Antártica Ltda., Río Prat). El destino de la mayoría de las ovas que fueron autorizadas a ingresar al país, en el periodo 1979 – 2000, fue la Región de los Lagos (Figura 52).

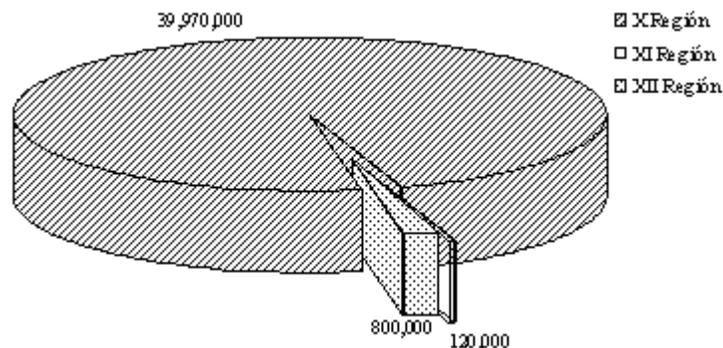


Figura 52: Destino de ovas de salmón chinook (*O. tshawytscha*) autorizadas a ingresar al país en el periodo 1977 – 2000.

La totalidad de las resoluciones que autorizaron importación de ovas entre 1977 y 2000, señalan el o los países de procedencia (74% un único país, 26% dos o más países), aunque sólo 24 indican el estado o ciudad de origen y 27 especifican el proveedor (Tabla 50). En igual periodo, para el 84% (35 millones) de las ovas autorizadas se desconoce el estado o ciudad de origen o proveedor.

Tabla 50: Origen de ovas de salmón chinook en autorizaciones de importación en el periodo 1977–2000 (Subsecretaría de Pesca 2007). *Porcentaje sobre el total de autorizaciones de importación. ** Porcentaje sobre el total de ovas en Estados Unidos. *** Representación porcentual del proveedor en el total de ovas.

País	Estado/ciudad de origen	Proveedor
Estados Unidos (48%)*	Washington (60%)**	Fish Pro Inc., Universidad de Washington
	Oregon (40%)**	Aqua Food, Oregon Aquafoods, Aqua Seed Corp.
	Alaska (Sitka)	-
Canadá (27%)*	Vancouver	Sea Spring Salmon Farms Ltd. (50%)***, Hardy Sea Farms, Hadfield Consultants Inc., Hatfield International SA., Fishpro., Aqua Seed.
Nueva Zelanda (15%)*	Stewart Island (Costa Este) y Kaitan Gata (Isla Sur)	"Big Glory Bay" Hatchery, "Kaitan Gata" Hatchery, "Sanford Waitaki Salmon" Hatchery.
Australia (5%)*	-	-
Tasmania (5%)*	-	-

ii. *Importación efectiva.*

Según el SERNAPESCA, las ovas efectivamente importadas a Chile en el periodo 1977 – 2000 alcanzaron un total de 9,3 millones. Provenían principalmente de Estados Unidos, Canadá y Nueva Zelanda (Tabla 51), desconociéndose el proveedor en el 40% de los casos. El destino de las ovas fue principalmente la Región de Los Lagos, tanto hacia territorio insular (Chiloé) como continental (Figura 53), y para proyectos de *ranching* y cultivo intensivo.

A partir del 2001 la importación de ovas se detiene⁴, debiendo abastecerse el mercado con ovas de origen nacional, con rangos de producción que van entre los 0,3 y 5 millones de ovas al año.

⁴La importación de ovas se detuvo debido a la reducción considerable de empresas interesadas en el cultivo de la especie, dado su limitado mercado y presencia de competidores importantes. Se suma a estos aspectos, los altos niveles de stress y presencia enfermedades durante su cultivo (Swinburn 2006, comunicación personal).

1.3.2. Siembras de salmón chinook.

A partir del año de creación de la Subsecretaría de Pesca (1976), 72 resoluciones han autorizado la importación de ovas de salmón chinook a Chile, cuatro de las cuales autorizan al mismo tiempo, la siembra de smolt en distintos cauces de las regiones de Los Lagos y Magallanes. En la Tabla 52 se observa un resumen de las siembras de salmón chinook en Chile anteriores y posteriores a 1976.

Tabla 51: Origen de ovas de salmón chinook importadas a Chile entre 1977 y 2000 (SERNAPESCA 2007); 1: Región de Los Lagos, 2: Región de Aysén, 3: Región de Magallanes, 4: centro de cultivo.

País	Estado (ciudad)	Cuenca	Río	Propósito	Años	Ovas (Mill)	Destino / latitud.
Estados Unidos	Oregon, Springfield	-	-	Siembra/ Cultivo	1978 a 1997	2,9	Río Sur ¹ (41°), Lago Rupanco ¹ (41°), Curaco de Vélez ¹ (42°) Pichicolo ¹ (42°), Hualaihue ¹ (42°), Río Prat ³ (51°), Río Santa María ³ (53°)
	Washington, Seattle	Columbia	Cowlitz Green Kalama Rivers	Siembra/ Cultivo	1978 a 1997	3,32	Estero Ñilque, Osorno ¹ (41°) Lago Llanquihue ¹ (41°) Curaco de Vélez ¹ (42°) Isla Magdalena ² (45°) Isla Tortuga ² (45°) Río Prat ³ (51°), Río Sta. María ³ (53°)
Canadá	Isla de Vancouver, Duncan	Koksilah	Koksilah	Siembra/ Cultivo	1988, 1992, 1995	2,4	Pichicolo ¹ (42°), Hualaihue ¹ (42°), Chaqueihua ¹ (42°)
Nueva Zelanda	Auckland	-	Waitaki ⁴	Cultivo	1989, 2000	0,7	Pichicolo ¹ (42°), Hualaihue ¹ (42°), Chaqueihua ¹ (42°)

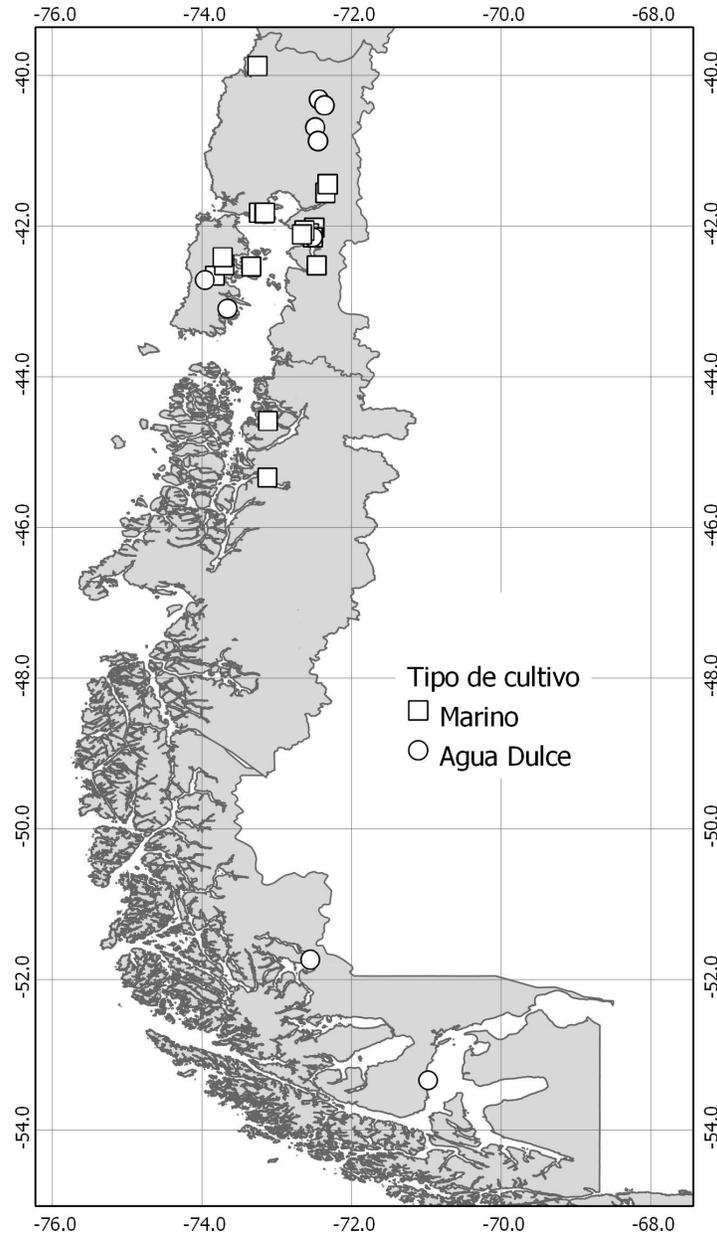


Figura 53: Cultivo marino y de agua dulce de salmón chinook en el sur de Chile, 1970-2010.

Tabla 52: Siembras de salmón chinook en Chile, 1970-2010.

Fecha de introducción	Lugar de siembra	Origen de introducción	Motivo de introducción	Resultado de introducción	Fuente
1886	-	París (California, U.S.A.)	Ranching Pesca deportiva	Probablemente no establecido	(Basulto 2003)
1924	Ríos Cautín, Maullín, Cochamó, Puelo y Blanco (Maipo)	Río McCloud, U.S.A.	Ranching Pesca deportiva	Probablemente no establecido	(Basulto 2003)
1930	-	Río McCloud, U.S.A.	Ranching, Pesca deportiva	Probablemente no establecido	(Basulto 2003)
1970 y 1971	Río Chirri, Osorno	Washington, U.S.A.	Ranching	Probablemente no establecido	(Vila et al. 1978)
1974	Curaco de Vélez, Isla de Chiloé	Río Cowlitz (Río Columbia), Washington, U.S.A.	Ranching	Probablemente no establecido	(Becker 2004)
1977 - 1978	Curaco de Vélez, Isla de Chiloé.	Noroeste de Washington, U.S.A.	Ranching	Probablemente establecido	(Fundación Chile 1990)
1978 - 1982	Curaco de Vélez y Lago Popetán, Isla de Chiloé	Noroeste de Washington, U.S.A.	Ranching	Probablemente establecido	(Fundación Chile 1990)
1982 ⁵	Río Santa María, Punta Arenas.	Washington, U.S.A.	Ranching	Probablemente no establecido	(Basulto 2003)
1983	Río Prat, Puerto Natales.	Curaco de Vélez, Pisc. Astilleros (canal Dalcahue) y Washington.	Ranching	Probablemente establecido	Com. Pers., C. Jélvez, 2005.
1984	Curaco de Vélez	Río Cowlitz (Río Columbia), Washington, EEUU	Ranching	Probablemente establecido	(Fundación Chile 1990)
1987	Río Prat, Puerto Natales.	Curaco de Vélez, Pisc. Astilleros (canal Dalcahue), retornos del río Prat y Washington	Ranching	Probablemente establecido	Com. pers. C. Jélvez, 2005. Com. pers. F. Carrasco, 2005.
1990	Ríos Maicolpué y Contaco, Prov. Valdivia.	Nacional	Ranching	Probablemente establecido	Universidad de los Lagos, X Región.

⁵ Basulto describe el Río Santa María, Punta Arenas, como lugar de siembra de salmón chinook, sin embargo, antecedentes recopilados por G. Leiva (2005, com.per.), señalan que esta iniciativa habría fracasado antes de hacer liberaciones debido a importantes modificaciones del caudal del río. Esto motivó la búsqueda de un nuevo sitio para la instalación de la piscicultura (Río Prat).

Los antecedentes disponibles permiten identificar en Chile, dos puntos de liberaciones masivas exitosas de salmón chinook, dado el reporte de retornos años después de la siembra.

El primer punto y más septentrional, estuvo en la Isla de Chiloé, corresponde a dos iniciativas privadas que intentan hacer cultivos de salmónidos bajo el sistema Ocean Ranching. La inicial fue la de “Unión Carbide Comercial Chile, Ltda.” que construyó en 1974, una piscicultura en Curaco de Vélez, en la zona de Dalcahue, Chiloé; en 1978 liberó más de 170.000 alevines de salmón chinook en el Lago Popetán y en Curaco de Vélez. Entre los años 1979 y 1982, la Subsecretaría de Pesca autoriza, por primera vez (primera resolución de junio de 1979) la liberación en el Lago Popetán, Río y Estuario Colu, Ríos Aucar y San Juan Sud en la Isla de Chiloé. Fue otorgada a la Pesquera Domsea Chile Ltda., la que finalmente, sólo efectuó liberaciones en el Lago Popetán en un número cercano a los 400.000 alevines de salmón chinook. En septiembre de 1981, Fundación Chile, bajo el nombre de “Salmones Antártica” compró las instalaciones de “Domsea Pesquera Chile, Ltda”.

El segundo punto de liberación, más austral y más importante de siembra de salmón chinook, fue desarrollado también por Fundación Chile en la Región de Magallanes en la década de 1980. Entre 1980 y 1982 se registra la llegada de ovas provenientes de la Universidad de Washington originadas de reproductores del Río Green, Seattle (stock original del Río Kalama de la cuenca del Río Columbia) (Donaldson & Joyner. 1983). En 1982 se liberan alevines en el Río Santa María, 60 km al sur de Punta Arenas. Se registran los primeros retornos de jacks en el año 1983 (Basulto 2003, Manuel Barros 2008 com. personal). El más importante programa de siembras de salmón chinook en aguas australes, ocurrió entre los años 1983 y 1989, con la instalación de una piscicultura en el Río Prat, Puerto Natales (Basulto 2003) (Figura 54). El origen de las ovas fue Washington, Curaco de Vélez, Piscicultura Astilleros (canal Dalcahue) y retornos del mismo río (C. Jélvez com. pers.; Subsecretaría de Pesca, 2005) (Tabla 53).

A pesar que en la Región de Aysén se materializó el proyecto de mayor envergadura y continuidad del hemisferio sur⁶ para la introducción del salmón en tiempos recientes, en este estudio se pudo descartar la liberación masiva de salmón chinook en esta región (Méndez y Munita, 1989; Jorge Ruiz, com. pers.).

⁶ “Programa de Introducción de Salmón del Pacífico en Chile” convenio de cooperación entre el Gobierno de Japón, a través de su Agencia de Cooperación Internacional (JICA) y el Gobierno de Chile.

Tabla 53: Primeras liberaciones de alevines de salmón chinook efectuadas por Fundación Chile entre los años 1982 y 1989 (*Proyectado, fuente: Méndez y Munita, 1989)

Año producción	Curaco de Vélez	Astilleros	Pto. Natales	Total
1982/1983	120.000	-	-	120.000
1983/1984	240.000	360.000	12.000	612.000
1984/1985	60.000	150.000	40.000	250.000
1985/1986	-	150.000	85.000	235.000
1986/1987	-	110.000	320.000	430.000
1987/1988	200.000	100.000	1.500.000	1.800.000
1988/1989	200.000*	200.000*	2.100.000*	2.500.000*
Total				5.947.000

1.3.3. Siembras de salmón coho.

Al igual que la trucha café y el salmón del Atlántico, el salmón coho fue introducido a Chile a comienzos de siglo pasado con ovas procedentes de Estados Unidos en 1930. A pesar de las siembras efectuadas, la especie no logró poblar sistemas naturales. Producto de un programa cooperativo entre Estados Unidos y Chile, desarrollado entre 1967 y 1972, la especie fue nuevamente introducida con el propósito de Ocean Ranching. En 1967 la División de Pesca y Caza del Servicio de Agricultura y Ganadería de Chile y el Cuerpo de Paz de EEUU, acordaron transplantes de salmones del Pacífico provenientes de Washington, entre Valdivia y Puerto Montt. Entre 1969 y 1970 se sembraron 320 mil alevines en arroyos y ríos que vierten en el seno de Reloncaví (41° 30' S). El Estero La Zorra recibió en 1968 la siembra de 12.000 alevines de salmón coho (*O. kisutch*). Estos fueron donados por la Humboldt State College de California. También se sembraron en ese Estero en el verano de 1969-1970 un número indeterminado de alevines cedidos por la Comisión Pesquera del Estado de Oregon (Méndez & Munita 1989).

En 1974 la empresa norteamericana Union Carbide Comercial Chile Ltda., por intermedio de su subsidiaria chilena Domsea Pesquera Chile Ltda., construyó una piscicultura en Curaco de Vélez, e inició trabajos de cultivo abierto, liberando en 1978 más de 200.000 alevines de salmón coho en el Lago Popetán y en Curaco de Vélez con ovas obtenidas a partir de reproductores del Río Cowlitz, afluente del Columbia, en el Estado de Washington (Richard Noble, Washington fide (Becker 2004). Entre 1978 – 1982 no menos de 600 mil ejemplares de salmón coho, son liberados en el mismo lugar. Luego de dos o tres años se registraron los primeros retornos de la especie (Fundación Chile 1990).

En 1979, la empresa “Nichiro Chile, Ltda.” inicia el cultivo de salmón coho en jaulas. Por disposiciones estipuladas en la autorización inicial de funcionamiento la empresa debió liberar un 10% de los alevines obtenidos. Alrededor de 17.000 alevines se liberaron en el Río Correntoso en febrero de 1980, 15.000 en octubre del mismo año y 10.000 en septiembre de 1981. A partir de 1982, la empresa quedó exenta de la obligación de liberar alevines (Méndez & Munita 1989).

En diciembre de 1979, la “Sociedad Pesquera Mytilus, Ltda” comienza sus actividades de cultivo en jaulas de salmón coho. Alevines obtenidos desde 10.000 ovas fueron liberados en el Río Sur, afluente del Río Pescado, en la Región de Los Lagos. Pasados dos años desde este hecho, se registraron los primeros retornos a la piscicultura (Figura 54).

A partir de la década de 1980 el cultivo de salmón coho cobra importancia, derivando la producción hacia sistemas cerrados. Desde 1988, mediante un convenio JICA - Corporación de Fomento de la Producción (CORFO) y su filial el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), se produce en la Región de Aysén, ovas nacionales de salmón plateado a través de cultivo abierto para la venta de ovas o alevines.

1.3.4. Siembras de salmón sakura (*Oncorhynchus masou*), keta (*Oncorhynchus keta*) y salmón rosado (*Oncorhynchus gorbuscha*).

En 1969, el Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA), fue designado como contraparte del “Programa de introducción de salmón del Pacífico en Chile”, resultante del convenio de cooperación entre el Gobierno de Japón, a través de su Agencia de Cooperación Internacional (JICA) y el Gobierno de Chile. Este programa ha sido el de mayor envergadura en el Hemisferio Sur, para la introducción del salmón. Luego de la búsqueda de lugares aptos para realizar el programa, se eligió la hoya hidrográfica del Río Simpson, específicamente el Río Claro en la Región de Aysén, para ejecutar la primera experiencia de incubación y alevinaje para liberación de 150.000 ovas de salmón sakura en 1972. Dos años más tarde, se inicia la construcción de la piscicultura “Dr. Yoshikazu Shiraishi”, donde se incubaron por primera vez un millón de ovas de salmón keta, también conocido como “perro” o “chum”. Posteriormente se sembró, con salmón sakura, la Laguna Don Poli, en Puerto Ibáñez.

Entre 1974 y 1976, se incubaron dos millones de ovas de salmón sakura por año provenientes de Japón, hasta la fase de alevinaje y posterior liberación. En 1981, en el marco del mismo proyecto, empieza a operar la piscicultura de Ensenada Baja, ubicada en las proximidades de la desembocadura del Río Aysén. Las especies cultivadas fueron el salmón sakura, el salmón rosado y salmón keta.

EL proyecto SERNAPESCA-JICA continuó hasta 1987, sin haber logrado el objetivo inicial de naturalización de salmón keta y sakura, logrando niveles de retorno extremadamente bajos. Durante todo el programa se recibió desde Japón, un total de 40 millones de ovas, que se tradujo en la liberación de más de 26 millones de juveniles (Figura 54).

A partir de 1988, JICA suscribe un nuevo convenio con la Corporación de Fomento de la Producción (CORFO), a través de su filial el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP). Entre otros, los objetivos de este nuevo proyecto fue la producción de ovas nacionales de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) para venta de ovas o alevines.

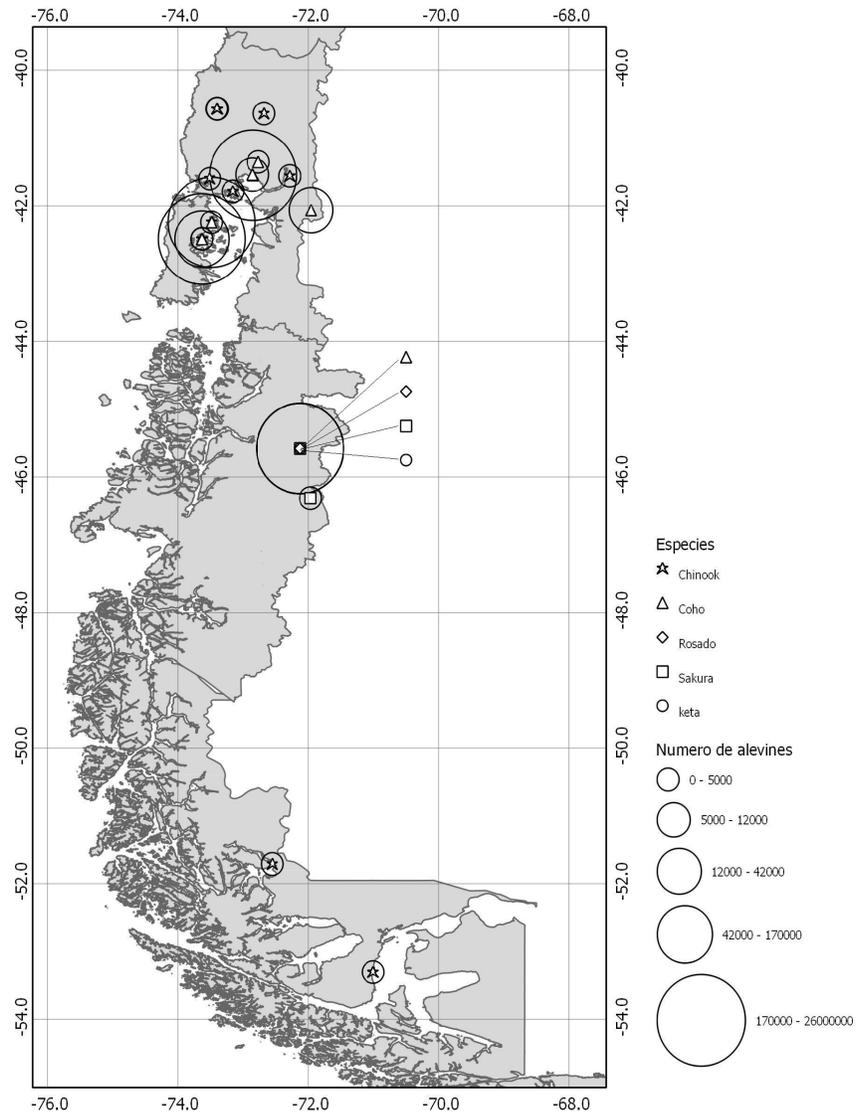


Figura 54: Siembras de salmónidos en la zona sur austral de Chile, 1960-2010.

2. ESCAPES DE SALMÓNIDOS EN LA REGIÓN DE AYSÉN.

2.1. Introducción.

Condiciones climáticas adversas, fenómenos geológicos en sitios de cultivo costeros, e incluso daños ocasionados por acción de terceros sobre balsas jaulas, se han descrito como las causas de escapes de millones de peces en los últimos años. También en el último tiempo, se ha acentuado la preocupación sobre potenciales impactos de estas especies exóticas, sobre el medio ambiente y en particular, sobre especies acuáticas nativas. Las especies asociadas a estos escapes han sido trucha arco iris, salmón coho y salmón del Atlántico, especies que se han transformado, sin embargo, en un recurso pesquero importante para pescadores artesanales.

Teniendo presente que estos escapes producen impactos ambientales, es necesario conocerlos y cuantificarlos, a fin de avanzar hacia la compatibilización de los intereses de producción y la conservación del ambiente. En este sentido, este capítulo entrega una caracterización general de número y peso total de peces escapados desde centros de cultivo en parte de la Región de Aysén, en particular en la provincia del mismo nombre, información obtenida desde la Dirección Regional del Servicio Nacional de Pesca.

2.2. Materiales y métodos.

La información sobre número y peso medio de peces escapados desde centros de cultivo de la Región de Aysén, se obtuvo desde la Dirección Regional del Servicio Nacional de Pesca, Región de Aysén. Corresponde a una base de datos digital con información oficial de escapes de los años 2004, 2007 y 2008, sólo referidos a la Provincia de Aysén .

2.3. Resultados.

De acuerdo a la información disponible, sólo tres comunas registran escapes, siendo Aysén la que registra la mayor cantidad, tanto en número de ejemplares como en toneladas de peces escapados. Las especies comprometidas, en orden de importancia, son trucha arcoiris, salmón coho y salmón del Atlántico (Tabla 54). El mayor número de ejemplares escapados corresponde a peces inferiores a 1.000 g, sin embargo, dado su número, las toneladas de peces escapados bajo y sobre ese peso medio, son semejante. En el año 2007 en la comuna de Aysén, se observa el efecto de los eventos sísmicos durante el mes de abril, con más de medio millón de peces escapados, que en conjunto, pesaron alrededor de 77 toneladas.

Tabla 54: Listado de información recopilada a partir de datos entregados por SERNAPESCA.

Provincia	Comuna	Localidad	Fecha ingreso SERNAPESCA	Especie	Unidades	Peso (g)	Peso total (t)
Aysén	Aysén	Bahía Acantilada	01-07-2004	<i>O. kisutch</i> y <i>O. mykiss</i>	2.337.000	900	2.103,3
Aysén	Aysén	Isla Partida, Bahía Chacabuco	01-07-2004	<i>O. mykiss</i> (hembras)	25.000	6	0,2
Aysén	Aysén	Puerto Chacabuco	14-05-2004	<i>O. kisutch</i>	2.925	400	1,2
Aysén	Aysén	Caleta Bluff	23-04-2007	<i>O. mykiss</i> y <i>Salmo salar</i>	600.000	62	37,2
Aysén	Aysén	Isla Partida, Bahía Chacabuco	30-04-2007	<i>O. mykiss</i>	80.000	500	40
Aysén	Aysén	Puerto Chacabuco	25-02-2007	<i>O. kisutch</i>	25.000	20	0,5
Aysén	Aysén	Puerto Chacabuco	25-02-2007	<i>O. kisutch</i>	25.000	20	0,5
Aysén	Aysén	Canal Williams lado este Isla Burr	28-04-2008	<i>O. kisutch</i>	12.867	3.080	39,6
Aysén	Guaitecas	Canal Perez Norte	12-06-2008	<i>Salmo salar</i>	73.170	230	16,8
Aysén	Cisnes	Isla Midhurst	10-03-2008	<i>O. mykiss</i>	777.000	2.300	1.787,1
Aysén	Aysén	Canal Chacabuco, Isla Humos	07-05-2008	<i>O. mykiss</i>	10.115	3.250	32,9
Aysén	Aysén	Canal Darwin, Isla Italia	07-05-2008	<i>O. mykiss</i>	4.590	2.900	13,3
Aysén	Aysén	Canal Errazuriz, Isla Luz	07-05-2008	<i>O. mykiss</i>	19.118	3.300	63,1
Aysén	Aysén	Canal Utarupa, Isla Humos	07-05-2008	<i>O. mykiss</i>	20.045	3.180	63,7
Aysén	Aysén	Canal Utarupa, Isla Humos	07-05-2008	<i>O. mykiss</i>	15.630	3.200	50
Aysén	Aysén	Canal Utarupa, Isla Humos	07-05-2008	<i>O. mykiss</i>	18.169	3.270	59,4
Aysén	Aysén	Isla Riveros, Canal Darwin	07-05-2008	<i>O. mykiss</i>	11.845	3.150	37,3

3. DISCUSIÓN

El análisis histórico efectuado en la presente revisión, consideró todos los registros de la Subsecretaría de Pesca a partir de su creación en 1976, periodo coincidente con el de mayor dinamismo productivo de salmón chinook en el país. A partir de esa fecha, las importaciones de material biológico a Chile han sido registradas y documentadas con cierto detalle. Sin embargo, es a partir de la promulgación de la Ley de Pesca y Acuicultura el año 1991 y la aprobación de reglamentos sobre el Procedimiento para la Entrega de Información de Actividades Acuícolas e Internación de Especies de Primera Importación (D.S. N° 464 de 1995 y D.S. N° 730-95 de 1996 del MINECON, respectivamente), que la información recabada durante el proceso de importación (e.g. sanitario), ha sido considerablemente mayor.

A pesar de ello, varios antecedentes de importaciones potenciales o efectivas fueron deficitarios. Un ejemplo de ello, es la inexistencia o imprecisión de la información sobre el origen exacto del material biológico importado (e.g. cuenca). Estos antecedentes resultan clave si se desea conocer aspectos básicos de la especie que pudieran tener relevancia como elemento predictor en implicancias ecológicas (e.g. manifestaciones de historias de vida).

Diversos estudios afirman que la liberación masiva, accidental o voluntaria de salmónidos desde centros de cultivo a aguas marinas o continentales, están generando poblaciones asilvestradas (Soto et al. 2001). Los impactos ambientales provocados por estas poblaciones pueden producir al menos, tres efectos no deseados: hibridación con especies asilvestradas, transmisión de enfermedades y competencia/depredación sobre especies nativas. Dada la relevancia de estos impactos, que pueden traducirse en la alteración o destrucción de ecosistemas acuáticos, se hace necesario invertir en la implementación de medidas preventivas de escapes, mitigación para eventos no controlables y en el desarrollo de sistemas de registro obligatorios de los mismos.

Respecto de este último punto, las estadísticas públicas en Chile sobre el número de salmónidos escapados desde sistemas productivos, podrían ser incompletas y probablemente subestimadas en relación con los escapes reales (Soto et al. 1997). Podría pensarse incluso, que aún las estimaciones más altas pudieran estar por debajo de la realidad, dado el celo con que la industria nacional del salmón maneja estos antecedentes (García Moreno 2005).

De ser efectivas estas afirmaciones, la biomasa de salmónidos en estado libre, procedentes de centros de cultivo, correspondería hoy a una población considerable y por lo tanto de interés comercial para alguna pesquería. A pesar de ello, las disposiciones legales vigentes prohíben la captura de especies provenientes de cultivos, debido a que se reconoce a las compañías salmoneras como eventuales propietarias de estos peces (Ley N° 18.892, 1989). Tendiente a mitigar en parte, los efectos ambientales descritos, sería aconsejable revisar esta norma, así como diseñar otros mecanismos para prevenir, disminuir o anular dichos efectos en los ecosistemas acuáticos chilenos. Así mismo, las herramientas para investigar eventos de escapes y la efectividad de planes de contingencias frente a los mismos, se reconocen como insuficientes.

IV. Revisión bibliográfica y evaluación económica sobre el uso de marcadores genéticos para evaluar escapes de salmones. Determinar cuál es la metodología más apropiada para diferenciar el origen de los peces, referido a origen silvestre o escape de sistemas de cultivo (objetivo 4).

Cristian B. Canales-Aguirre¹, Sandra Ferrada¹ & Ricardo Galleguillos¹

¹Universidad de Concepción.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Acuicultura de salmónidos y escapes

La acuicultura en Chile ha sido una de las fuentes importantes de ingresos económicos del país. Chile es el segundo productor mundial de salmón y el primero en truchas, junto a Noruega y Canadá. En Chile, los principales salmónidos cultivados son: el salmón del atlántico *Salmo salar*, salmón plateado o coho *Oncorhynchus kisutch* y trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss* (Figura 55) alcanzando en el 2006 una cosecha superior a 647.000 ton (SERNAPESCA 2006). Aún cuando Chile se posiciona dentro de las potencias mundiales en la industria del salmón, esta actividad presenta problemas que no han sido resueltos, destacándose los escapes de salmones cultivados como uno de los más importantes a escala regional. Si bien la responsabilidad del daño ambiental de los escapes corresponde a la empresa de cultivo, la reglamentación vigente es bastante débil e incluso contradictoria respecto de las acciones de contingencia. A modo de ejemplo, la legislación establece metas de recaptura de al menos del 10% en un plazo de 30 días prorrogable, no obstante a las empresas se les hace difícil identificar a sus propios individuos. Mientras que existe una capacidad importante de captura de salmónidos escapados por parte de la flota pesquero-artesanal de la zona (Soto et al. 2001), existen prohibiciones absolutas a su operación, sustentadas en viejas regulaciones de protección de especies introducidas para fines recreacionales, y en el deseo de evitar el blanqueo de especímenes robados haciéndolos aparecer como procedentes de capturas artesanales.

Desde el punto de vista ecológico, existe una clara necesidad de poder estimar las proporciones de salmónidos de vida libre que corresponden a salmones asilvestrados y a salmones escapados de centros de cultivos. Mientras que las tasas de consumo de alimento, composición dietaria, sobrevivencia y crecimiento podrían diferir entre salmones escapados y asilvestrados, la duración de sus respectivos impactos sobre el ecosistema será también sustancialmente distinta. Mientras que los salmones escapados podrían ejercer presiones tróficas de gran intensidad, pero corta duración sobre el ecosistema, lo contrario podría ocurrir con las especies asilvestradas. En función de la problemática planteada existen dos escalas de resolución sobre la procedencia de individuos de vida libre, las que dependen de los objetivos para los cuales se busque la discriminación de ejemplares asilvestrados y escapados. En un nivel más básico se encuentra la simple estimación de las proporciones de cada grupo en una determinada muestra. Para ello existe una batería de métodos desde los más simples (Tabla 71, ver anexo 1), basados en la existencia de una marca erosiva en la

cola de los individuos procedentes de cautiverio (Soto et al. 1997), hasta los más sofisticados basados en biología molecular; pasando por técnicas de complejidad intermedia como el análisis de composición y/o proporción lipídica (Soto et al. 1997), y de estructura y composición de otolitos (Sweeting et al. 2004).

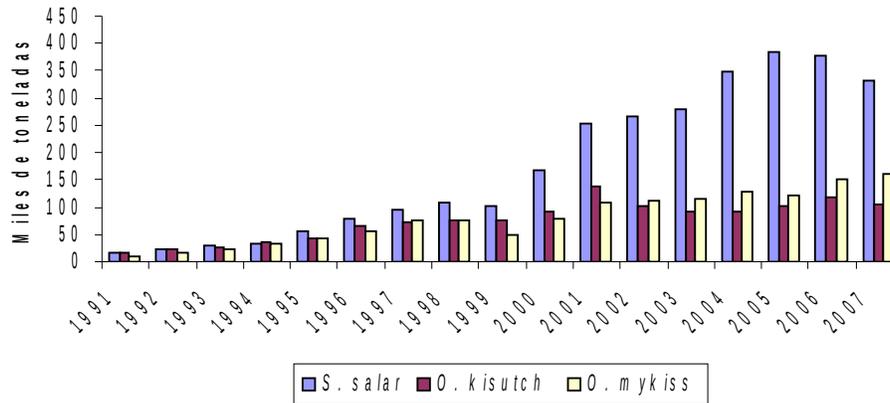


Figura 55: Desembarques (en toneladas) de tres principales recursos de salmónidos cultivados en Chile, datos desde 1991-2007 (Fuente Sernapesca 1991-2007).

En un nivel de mayor precisión, se esperaría poder identificar la procedencia (centro de cultivo, empresa) de los organismos escapados. Esto con el fin de permitir a empresas y organismos de seguridad identificar la procedencia de salmones comercializados ilegalmente, así como también a las propias empresas y organismos ambientales evaluar el éxito de los planes de recaptura y la contribución relativa de distintos eventos (escapes) al efecto global de los escapes sobre el medio-ambiente. Para estos fines, se podría emplear técnicas moleculares, como también el marcaje masivo de los smolt transferidos a ambientes estuarinos. Mientras que en el primer caso es necesario evaluar su precisión en el segundo, se hace necesario evaluar sus posibles impactos sobre el crecimiento y sobrevivencia de los individuos marcados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

Realizar una revisión bibliográfica y evaluación económica sobre el uso de marcadores genéticos para evaluar escapes de salmones. Determinar cuál es la metodología más apropiada para diferenciar el origen de los peces, referido a origen silvestre o escape de sistemas de cultivo.

2.1. Revisión bibliográfica sobre el uso de marcadores genéticos para evaluar escapes de salmones.

Para este objetivo se recopiló material e información bibliográfica en literatura formal y gris sobre genética de salmónidos y el uso de marcadores moleculares como herramienta para evaluar escape en motores de búsqueda. Las palabras claves utilizadas fueron:

nombre científico del recurso, genética, gen, acuicultura, cultivo, marcador genético, variabilidad genética, estructura genética, aloenzima, ADN nuclear, mitocondrial, cromosomas, genética cuantitativa, RAPD, RFLP, AFLP, EST, microsatélites, salmón, escape, etcétera (en Inglés y Español). El listado de fuentes consultadas se detalla a continuación.

2.1.1. Revistas nacionales (incluyendo algunas discontinuadas)

- a) Archivos de Medicina Veterinaria, publicada por Universidad Austral de Chile, Facultad de Medicina Veterinaria. ISSN 0301-732X.
- b) Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción / Sociedad de Biología de Concepción ISSN: 0037-850X.
- c) Gayana publicada por Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción ISSN: 0717-652X.
- d) Investigaciones Marinas publicada por Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso ISSN 0716 – 1069.
- e) Revista Chilena de Historia Natural publicada por la Sociedad de Biología de Chile. ISSN 0716-078X.
- f) Revista de Biología Marina y Oceanografía publicada por la Universidad de Valparaíso, Facultad de Ciencias del Mar. ISSN: 0717-3326.
- g) Revista de Biología Marina publicada por la Universidad de Valparaíso, Instituto de Oceanología. ISSN 0080-2115.
- h) Biología pesquera, Biota, Medio Ambiente (descontinuadas)

2.1.2. Revistas internacionales

- | | |
|--|-------------------------------|
| a) Animal genetics | b) Aquaculture |
| c) Aquaculture Research | d) Aquatic Living Resources |
| e) Canadian Journal of Fish and Aquatic Sciences | f) Conservation Biology |
| g) Conservation Genetics | h) Fish Bulletin |
| i) Fisheries Research | j) Freshwater Biology |
| k) Genética | l) Genetics |
| m) Genetics and Molecular Biology | n) Heredity |
| o) Hydrobiologia | p) Journal of Fish Biology |
| q) Journal of Experimental Marine Biology and Ecology | r) Journal of Heredity |
| s) Journal of Marine Biology | t) Marine Biology |
| u) Marine Biotechnology | v) Molecular Ecology |
| w) Marine Ecology Progress Series | x) Molecular Ecology Resource |
| y) New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research | |

2.1.3. Tesis de pre y postgrado.

La página web: www.cybertesis.cl contiene las tesis de pre y post-grado de universidades del Consejo de Rectores.

2.1.4. Biblioteca y base de datos de proyectos disponibles en SERNAPESCA, Subsecretaría de Pesca e IFOP.

Se recopiló información disponible en la biblioteca de SERNAPESCA en Valparaíso de estudios publicados relacionados con caracterización genética de salmónidos cultivados en Chile. Por otro lado se consultó a las bibliotecas de Subsecretaría de Pesca y del Instituto de Fomento Pesquero (IFOP).

2.1.5. Agencias de promoción y financiamiento de investigación científica y tecnológica

- a) FIP
- b) FONDEF
- c) FONDECYT.
- d) INNOVA

2.1.6. Material disponible en bases de datos nacionales e internacionales.

a) National Center for Biotechnology Information (NCBI): Es una base de datos que resume información de biología molecular. El NCBI crea bases públicas de datos, realiza investigación en biología computacional, desarrolla herramientas tipo software para el análisis de genomas y disemina información biomédica para el mejor entendimiento de los procesos moleculares que afectan la salud pública.

b) *European Molecular Biology Laboratory* (EMBL). Es la principal base de datos de secuencias de nucleótidos de Europa. Contiene nombres de investigadores y las secuencias de los genomas que han caracterizado. La base de datos se construye en colaboración con GenBank (USA) y DNA Database of Japan (DDBJ). Para la búsqueda de información genética respecto a salmónidos cultivados se utilizará la base bibliográfica disponible en este sitio que corresponde a MEDLINE. Esta base contiene citas y resúmenes de más de 4.000 revistas publicadas en Estados Unidos y otros 70 países desde mediados de 1960 a la fecha.

c) *DNA Data Bank of Japan* (DDBJ): Este banco de datos de DNA comenzó sus actividades en 1986 en el National Institute of Genetics (NIG) y trabaja en colaboración para las secuencias de nucleótidos sean de libre acceso (junto con EBI/EMBL y NCBI/GenBank).

d) *Mitochondrial Genome Database of Fish* (MitoFish): Esta es una base de datos que permite a los usuarios *acceder* la información disponible del genoma mitocondrial de distintas especies de peces.

e) *Consortium for Barcode of Life (CBOL)*: Esta es una iniciativa internacional con el fin de desarrollar un DNA barcoding, es decir una herramienta costo-efectivas para la taxonomía de especies vegetales y animales. A través del uso de secuencias cortas de genes de una región estandarizada del genoma se pretende descubrir y caracterizar especies y/o asignar estatus específico a organismos no identificados.

f) *Integrated Taxonomic Information System (ITIS)*: Esta base de datos incluye información taxonómica sobre plantas, animales, hongos y microorganismos de Norteamérica y el mundo.

3. RESULTADOS.

3.1. Estado del arte respecto a metodologías moleculares aplicables para la determinación de peces escapados.

El uso de herramientas moleculares presenta una ventaja respecto a muchos otros métodos de identificación de escapes de especies en cultivo. Particularmente por que esta técnica se centra en el análisis de la variabilidad o polimorfismos del ADN y la facilidad de obtener copias de fragmentos o genes específicos mediante la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Los análisis de variabilidad de ADN se centran en la identificación y utilización de marcadores moleculares, los cuales son definidos como, cualquier fenotipo molecular que sea producto de la expresión de un gen o de segmentos específicos del ADN, que pueden ser regiones expresadas o no del genoma (Ferreira & Grattapaglia 1989). Existen diferentes clasificaciones de los marcadores moleculares, aunque desde hace unos años la más utilizada es la basada en PCR (Ferreira & Grattapaglia 1989). Esta técnica, da la facilidad de acceder y obtener una gran cantidad de fragmentos de ADN específico (Mullis 1990). Si bien esta la técnica de PCR ha experimentado una serie de modificaciones desde su invención, el principio fundamental es encuentra en la amplificación de secuencias específicas de ADN usando oligonucleótidos que flanquean la región, en presencia de desoxinucleótidos trifosfatos precursores (dNTPs), ión magnesio Mg⁺² y Taq ADN polimerasa. Esta reacción es sometida a diferentes condiciones cíclicas de temperatura, lo que permite la amplificación in vitro de ADN a partir de una hebra molde. Las características moleculares son una medida directa de los cambios en el genotipo de un individuo (Montoya et al. 1996), por lo cual hoy en día se utilizan marcadores moleculares que miden en forma directa o indirecta la variación genética de poblaciones, estructuración.

De la mano con los avances en la obtención de metodologías para obtener y acceder a l ADN, se han incrementado una serie de nuevas aproximaciones que utilizan bases de datos moleculares para asignar utilizando genética. El objetivo general de los métodos de asignación genética es asignar o excluir a las poblaciones de referencia como los posibles orígenes de los individuos sobre la base de genotipos multilocus. Un desarrollo más rápido y más barato de marcadores genéticos altamente polimórficos, como microsatélites, ha aumentado la eficacia de tales métodos. Estos métodos, además de responder preguntas tales como estructuración poblacional, y relaciones de parentesco, es muy importante la clasificación nivel individual (Estoup & Angers 1998). Los métodos de asignación nos

permiten determinar de donde son los individuos o de donde no son, sino que también pueden proporcionar estimaciones directas de la dispersión en tiempo real a través de la detección de inmigrantes (Paetkau et al. 2004; Rannala & Mountain 1997). Algunos criterios de asignación es la utilización del cálculo de la probabilidad de asignación (Cornuet et al. 1999; Paetkau et al. 1995; Rannala & Mountain 1997). Métodos de remuestreo basados en Monte Carlo han sido propuestos para identificar un umbral estadístico a partir del cual los individuos son susceptibles de ser excluidos de una determinada muestra de referencia de la población (Rannala & Mountain 1997; Cornuet et al. 1999; Paetkau et al. 2004)

En peces los principales marcadores moleculares utilizados son de origen nuclear (ADN_c), mitocondrial (ADN_{mt}) y Aloenzimas, estos han sido utilizados en un gran número de estudios, los cuales han tenido como objetivos determinar análisis poblacionales, variabilidad genética, relaciones de parentesco, origen geográfico, discriminar peces domesticados y salvajes, diferencias genéticas desde cepas en centros de cultivos, determinar individuos escapados desde centros de cultivos, determinación si el origen de peces naturalizados tienen un origen desde escapes de centros de cultivos.

La mayor cantidad de ejemplos de determinación de peces escapados esta dado en salmónidos, debido a que estos han tenido un gran crecimiento en las últimas décadas gracias a la acuicultura a nivel mundial y nacional (Figura 55). En ellos se han utilizado marcadores moleculares de Aloenzimas, ADN_{mt} y ADN_c . Algunos ejemplos de estos marcadores son:

a) Aloenzimas: utilizado en cinco cepas de *S. salar* (Skaala et al. 2005); utilizado en cuatro cepas de *O. kisutch* (Perez et al. 2001); utilizado en cuatro especies de salmónidos *O. tshawytscha*, *O. kisutch*, *O. nerka* y *O. mykiss* (Kuligowski & Winans 2002). b) RFLP de NADH1 en poblaciones (Nielsen et al. 1996). c) para el caso de ADN_n los principales que se han utilizado son marcadores del tipo microsatélites, hay disponibles en diferentes salmónidos, especialmente en los cultivables, *S. salar* (Paterson et al. 2004; King et al. 2005), *O. mykiss* (Ostberg & Rodriguez 2002; Rodriguez et al. 2003; Aguilar & Garza 2008), *O. kisutch* (Smith et al. 2006) y *O. tshawytscha* (Banks et al. 1999; Naish & Park 2002; Williamson et al. 2002). Estos marcadores han sido utilizados ampliamente en estudios de estructura poblacional (Ford et al. 2004; Deiner et al. 2007), construcción de mapas genéticos (Gilbey et al. 2004; Moen et al. 2004), paternidad (Borrell et al. 2002) búsqueda de caracteres cuantitativos (QTLs) (Houston et al. 2008) y asignación a poblaciones en salmónidos de cultivo y vida silvestre (Skaala et al. 2004; Skaala et al. 2005; Withler et al. 2007; Glover et al. 2008).

Existe un importante número de estudios genéticos en salmónidos silvestres y de cultivo, utilizando diferentes marcadores moleculares entre los que destacan aloenzimas, ADN mitocondrial y microsatélites (Mjølnerød et al. 1997; Norris et al. 1999; Skaala et al. 2004). Mjølnerød (1997), utilizando tres tipos de marcadores moleculares, 12 aloenzimas, tres loci únicos y un minisatélite encontró diferencias significativas entre salmones silvestres y de cultivo. Skaala et al. (2004), utilizando microsatélites, llegaron también a distinguir con gran precisión (96-97%) individuos de cultivo y silvestres, mientras que Skaala et al.

(2005) pudieron discriminar individuos entre cinco cepas cultivadas. Utilizando esta metodología han podido asignar individuos de cultivo y silvestre con una 97 y 96 % de exactitud respectivamente. Glover (2008), utilizando 15 marcadores microsatélites y creando una línea base para 7 centros y 16 jaulas, pudieron demostrar el origen más probable de cada salmón del Atlántico capturado, correspondiente a una muestra de 30 ejemplares escapados. En Chile, Astorga et al. (2008), teniendo como objetivo identificar la procedencia de los salmones chinook asilvestrados en el río Petrohué, utilizando 3 loci microsatélites. Los resultados fueron comparados con muestras de individuos obtenidos desde cultivo. Los resultados encontrados mostraron mayor variabilidad genética en los individuos asilvestrados que la obtenida en los individuos de cultivo y además se observó divergencia genética entre ellos, lo que permite indicar que las poblaciones de salmones desovantes en el río Petrohué actualmente no son explicadas por posibles escapes desde los grupos de salmones de cultivo, sino más bien corresponderían a poblaciones generadas desde los grupos liberados con fines de repoblamiento antes del comienzo de su cultivo.

La mayoría de los trabajos en los cuales utilizan marcadores genéticos para determinar origen y principalmente especies de peces escapados son los microsatélites. Los microsatélites (SSRs, Simple Sequence Repeats; STRs, Short Tandem Repeats), corresponden a secuencias de ADN repetidas en tandem, con unidades o motivos de repetición que poseen entre uno 1 a 6 pares de bases de largo, y organizadas en bloques de 20 a unos pocos cientos de bases (Beckmann & Weber 1992). Presentan una amplia distribución a lo largo del genoma (O'Connell & Wriqth. 1997) y muestran altos niveles de polimorfismo alélico (Tautz 1989), debido a sus altas tasas de mutación que presentan (10-2-10-6 por locus por generación) (Ellegren 2000), esto lo convierte en la mayoría de los casos en marcadores moleculares hipervariables tanto a nivel específico como poblacional (Chistiakov et al. 2006), con un patrón de herencia codominante, fácilmente amplificado por PCR (De Woody & Avise 2000; Chistiakov et al. 2006), y con una amplia cobertura del genoma, ubicados usualmente en regiones intergénicas no codificantes del ADN nuclear (Chistiakov et al. 2006) aunque también se han encontrado en genomas cloroplastidial de algunas plantas (Powell et al. 1995). Estos marcadores son considerados selectivamente neutros, sin embargo diferentes estudios han provisto de relevancia funcional en un significativo número de SSRs. Las diferencias en la frecuencia de microsatélites en regiones codificantes y no codificantes se relaciona con una selección específica frente a mutaciones en las secuencias flanqueantes en las regiones codificantes. En general los microsatélites con motivo de repetición tri- y hexanucleotidos se encuentran en exceso en regiones codificantes y no codificantes, mientras que los microsatélites con otros tipos de repeticiones no son tan abundantes. La selección que existe contra las mutaciones en las regiones flanqueantes limita la expansión de los microsatélites no triplete en regiones codificantes (Metzgar et al. 2000). En el campo de pesquería y acuicultura, la utilidad de estos marcadores se ha dado en áreas como caracterización de stocks genético, selección de reproductores, evaluación de parentesco y asignación, construcción de mapas genéticos, mapeo de QTLs de importancia comercial, entre otros (Chistiakov et al. 2006). La obtención de este tipo de marcadores demanda un gran esfuerzo en tiempo y costo (Zane et al. 2002), ya que es necesario clonar, ligar, cultivar bacterias, encontrar el fragmento microsatélite, secuenciar y posteriormente diseñar partidores específicos de las regiones

flanqueantes para el microsatélite aislado de la especie objetivo. Esta es una de las principales desventajas de los microsatélites, pero aun cuando en teoría son especie específicos, estos tienen una característica, pueden ser utilizados en especies emparentadas, trabajando con partidores heterólogos para microsatélites.

3.2. Iniciativas mundiales para la detección de peces escapados y su impacto en poblaciones naturales.

En Noruega, el Institute of Marine Research (IMR), es pionero en la utilización de marcadores genéticos (microsatélites) para la identificación de salmones escapados desde centros de cultivos. Llamándolo Método de identificación forense basado en ADN. Este método fue implementado satisfactoriamente en diversos casos y actualmente se utiliza en la identificación de escapes en salmones, trucha arcoiris y bacalao común (*Gadus*). Tal importancia ha tomado esta metodología, en Noruega ya es un análisis de rutina por el directorio de pesquería de este país (Glover & Skaala 2009). En Chile, la iniciativa Darwin (The Darwin Initiative), con el proyecto “Reducing the Impact of Exotic Aquaculture on Chilean Aquatic Biodiversity” (www.biodiversity.cl), apunta a crear un puente entre desarrollo y conservación, principalmente dado que Chile es parte de la Convención sobre Diversidad Biológica (CBD). Generando la capacidad de determinar y de supervisar el impacto de las especies exóticas en la biodiversidad acuática local, y de identificar y de manejar los escapes de peces desde de las pisciculturas.

3.3. Fundamentación de la metodología más apropiada para diferenciar el origen de salmónidos de vida libre (origen silvestre o escapado)

La metodología más apropiada para determinar el origen de los salmónidos de vida libre capturados, teniendo en cuenta que podrían tener un origen silvestre o escapado desde centros de cultivos es la que utiliza DNA_n , principalmente loci microsatélites. Esta metodología esta fundada principalmente por importantes características que hacen a estos marcadores ideales para utilizarlos en la diferenciación poblacional, análisis de parentesco, etc. En términos generales salmónidos que se encuentren en centros de cultivos deberían diferenciarse genéticamente de salmónidos que se encuentran en vida silvestre, dada las siguientes razones: Primero, los salmónidos de cultivo no tienen un origen silvestre y son por lo tanto genéticamente diferentes como un resultado de heterogeneidad genética interpoblacional. Segundo, cualquier organismo que se encuentre en cultivo, los cambios ocurren por procesos de domesticación (antropogénicos), por ejemplo, selección de organismos con mayor crecimiento, resistencia a enfermedades, tasa de conversión de alimentos, etcétera. Esta deliberada o accidental selección puede provocar cambios genéticos aleatorios (deriva génica), lo cual lleva a una pérdida de variación genética debido a cambios estocásticos en las frecuencias alélicas en varias generaciones (Crow & Kimura 1970).

La metodología utilizada primero necesita realizar un perfil genético de los planteles reproductivos (población parental) de cada centro de cultivo. Esto dará información genética base comparativa para posteriores análisis de asignación. Ahora, teniendo en cuenta que en centros de cultivo, el plantel parental lo componen una fracción minoritaria

de la población total de los individuos del centro, esto va a permitir que las generaciones siguientes de peces sean similares en términos genéticos a esta pequeña fracción de parentales utilizados para reproducirse. Como se mencionó en el párrafo anterior, esta suerte de “selección” direccional realizada, en conjunto con la deriva génica (Fuerza microevolutiva que resulta de un cambio aleatorio en la frecuencia de alelos de una generación a otra. Normalmente se da una pérdida de los alelos con baja frecuencia y fijación de los más frecuentes, generando una disminución en la diversidad genética de la población). Esto en algunas generaciones puede generar diferencias entre los individuos de cada centro de cultivo.

Una vez, diferenciado los centros de cultivos estos pueden ser utilizados como líneas genéticas bases comparativas para la asignación de individuos recolectados en vida libre. Estos individuos se tipifican y se comparan sus perfiles con los de cada centro de cultivo.

Algunos ejemplos que avalan esta técnica ya mencionados en el texto son, aplicación de ADN en identificación de escapes desde centros de cultivo (Skaala 2007) identificación de peces escapados utilizando ADN (Glover & Skaala 2009), evaluación de herramientas para identificar origen genético de peces y su ocurrencia en estados salvajes (Blohm et al. 2008), utilización en salmón del atlántico (*S. salar*) (Skaala et al. 2004) utilización en *S. auratus* (Miggiano et al. 2005), Utilización en *S. auratus* (De Innocentiis et al. 2005), utilización en trucha arcoiris (*O. mykiss*) (Glover 2008) utilización en salmón del atlántico (*S. salar*) (Andreassen et al. 2008), utilización en salmón del atlántico (*S. salar*) (Glover et al. 2008), en salmón chinook (*O. tshawytscha*) (Astorga et al. 2008).

Hay bastante literatura asociada a marcadores moleculares y salmónidos, alozimas, ADN mitocondrial y ADN nuclear. Estos se han utilizado para la caracterización de cepas de cultivo, poblaciones nativas o ambas. La importancia económica de este recurso ha generado mucha investigación relacionada con caracterizaciones moleculares de salmónidos, esto principalmente para el conocimiento de poblaciones naturales, determinación de endogamia en centros de cultivo y ejecución de programas de selección asistida por marcadores. La mayoría de la información es de origen extranjero, en Chile el conocimiento genético de las especies y cepas que se cultivan es nulo.

Si bien diversos marcadores moleculares han sido utilizados en la caracterización genética de salmónidos los más importantes y efectivos son los microsatélites. La ventaja comparativa con otros marcadores es su alto polimorfismo, modo de herencia, co-dominancia y alta reproducibilidad en cualquier laboratorio. El uso de genotipos multilocus (varios loci microsatélites por individuo) puede llegar a identificar a nivel individual o asignar mediante el genotipo multilocus al lugar de procedencia del individuo. Otra de las ventajas recopiladas en esta revisión bibliográfica es que a diferencia con otros métodos de identificación de salmónes de cultivo y nativos, tales como: a) Morfológicos (erosiones de aletas y cola, peso, tamaño y lesiones en opérculos) (e.g. (Lura & Økland 1994); b) Perfiles de ácidos grasos (e.g. (Thomas et al. 2008); c) Pigmentos como Astaxantina y cantaxantina (e.g. (Webb et al. 1993; Lura & Økland 1994); d) Adherencias intra abdominal post vacunación (Lund et al. 1997); e) Perfiles de isotopos estables (e.g. (Thomas et al. 2008) y f) elementos traza en otolitos (e.g. (Veinott & Porter 2005), estos están influenciados por el

ambiente en donde se encuentren, en cambio el ADN es una huella genética única que difiere entre cada individuo.

3.4. Evaluación económica sobre el uso de marcadores genéticos para evaluar escapes de salmones desde centros de cultivo

A continuación se presentan los costos asociados a la implementación de un laboratorio con la capacidad de desarrollar la metodología molecular propuesta (Tabla 55).

Tabla 55: Costos asociados a la implementación de un laboratorio de biología molecular básico para evaluar escapes de salmones

Equipos, Material Fungible y Reactivos	Costos (pesos)
Congeladora Horizontal	300000
Balanza Analítica	700000
Balanza Digital	200000
Refrigerador Vertical	300000
Ultra Freezer -70°C	5000000
Fuente de Poder	400000
MicroCentrifuga Refrigerada	5000000
Peachimetro	100000
Equipo Foto documentación	5000000
Destilador de agua	2000000
Cuantificador de ADN	5000000
Termociclador con gradiente	7000000
Agitador Incubador	2000000
Micropipetas 4 juegos completos.	4000000
Microonda	60000
Vortex	300000
Agitador Magnético	2000000
Cámaras Electroforesis Horizontal	1000000
Autoclave	5000000
Secuenciador	70000000
PC 1	600000
PC 2	600000
1 impresora.	40000
Material fungible y reactivos	5000000
Costo total de implementación de laboratorio	121600000

A continuación se presentan los costos asociados a la aplicación de la metodología molecular propuesta, específicamente el análisis correspondiente al análisis de un microsatélite por ejemplar (Tabla 56).

Tabla 56: Costos asociados a la aplicación de la metodología molecular propuesta por locus microsatélite.

Costos asociados a la metodología molecular propuesta	Costos (pesos)
Obtención de muestras	2000
Extracción de ADN	1000
Amplificación de microsatélite por PCR	1500
Análisis de fragmentos de microsatélites (en secuenciador automático)	1500
Análisis estadístico de los datos	2000
Preparación de Informes	1000
Administración	1000
Costo total por muestra y por microsatélite analizado	10000

3.5. Capacidad nacional de laboratorios o grupos de investigación a nivel gubernamental, académico y privada, para implementar la metodología propuesta para Chile.

En la Tabla 57 se indica un catastro de los principales laboratorios o grupos de investigación a nivel gubernamental, académico y privada, para implementar la metodología propuesta para Chile con la capacidad de realizar la metodología molecular propuesta, como herramienta para determinar origen de salmones de vida libre.

Tabla 57: Nombre, dirección, e-mail y teléfono de investigadores a nivel gubernamental, académico y privada, para implementar la metodología propuesta para Chile.

ASTUYA, ALLISON Centro de Biotecnología Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas Universidad de Concepción	ASTORGA O., MARCELA P. Facultad de Pesquería y Oceanografía. Universidad Austral Casilla 1327-Pelluco, Puerto Montt marcelaastorga@uach.cl Tel. 65-277 133
COLLANTES, GLORIA Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Naturales Universidad de Valparaíso Casilla 5080 Valparaíso Tel. 32- 2507820	DIAZ P, NELSON Departamento Producción Animal. Facultad de Agronomía Universidad de Chile Santa Rosa 11315 La Pintana, Santiago ndiaz@uchile.cl Tel. 2- 9785706-9785783
DIAZ, HUMBERTO Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Naturales Universidad de Valparaíso Casilla 5080 Valparaíso Tel. 32- 2507820	ELLAHUEÑE, MANUEL Centro Nacional del Medio Ambiente Avda. Larraín 9975 mellahuene@cenma.cl Tel 299 41 00

GAJARDO G., GONZALO
Laboratorio de Genética & Acuicultura,
Departamento de Ciencias
Universidad de Los Lagos
Casilla 933, Osorno
ggajardo@ulagos.cl
www.laboratorigenetica.cl
Tel. 64-333331 /Fax:64-333394

GARLAND R., DAVID
Departamento de Administración Pesquera
Servicio Nacional de Pesca

GUINEZ D, RICARDO
Facultad de Recursos del Mar
Universidad de Antofagasta
Casilla 170, Antofagasta
rguinez@uantof.cl
Tel. 55-637454

ITURRA C, PATRICIA
Facultad de Medicina.
Universidad de Chile
Casilla 70061 Santiago 7
piturra@med.uchile.cl
Tel. 978 60 20 /Fax.: 737 31 58

NEIRA R, ROBERTO
Departamento Producción Animal. Facultad
de Agronomía
Universidad de Chile
Santa Rosa 11315 La Pintana, Santiago
rneira@uchile.cl
Tel 2-5413380

POULIN, ELIE
Facultad de Ciencias, Departamento de Cs. Ecológicas
Laboratorio de Ecología Molecular (LEM)
Universidad de Chile
Las Palmeras 3425 Ñuñoa.
epoulin@uchile.cl
Tel. 2-2727363

GALLARDO M, JOSE
Laboratorio de Genética Aplicada. Facultad de Recursos
Naturales. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
Avda. Altamirano 1480. Valparaíso
josegallardo@ucv.cl
Tel. 32-2274277

GALLARDO, CRISTIAN
Centro de Biotecnología
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

AQUAINNOVO
Polpaico 037
Puerto Montt
karina.rebolledo@aquainnovo.com
Tel. 56-434600

MARTINEZ M, VICTOR
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias,
Departamento de Fomento de Producción Animal
Universidad de Chile, Casilla 2 Correo 15
Santa Rosa 11735 La Pintana, Santiago
vmartine@uchile.cl
Tel 2-9785641

GALLEGUILLOS, RICARDO
Departamento de Oceanografía
Universidad de Concepción
Concepción
rgalleg@udec.cl
Tel. 41-2203882

COLIHUEQUE, NELSON
Departamento Ciencias Básicas
Universidad de Los Lagos
Osorno
ncolih@ulagos.cl
Tel. 64-333131

GENETICA Y TECNOLOGIA
Coronel Santiago Bueras 160A
Santiago
genytec@genytec.cl
Tel.2-6335269

TORO Y, JORGE
Facultad de Ciencias, Instituto de Biología Marina
Universidad Austral de Chile
Casilla: 567, Campus Isla Teja,
Valdivia
jtoro@uach.cl
Tel. 63-221558

VON BRAND, ELIZABETH
Facultad de Ciencias del Mar
Universidad Católica del Norte.
Larrondo 1281, Campus Guayacan,
Coquimbo
evonbran@ucn.cl
Tel. 51-209795

WINKLER M, FEDERICO
Departamento de Biología Marina
U. Católica del Norte
Casilla 117, Coquimbo
fwinkler@ucn.cl
Tel. 51-209 794

HERNANDEZ, CRISTIAN
Departamento de Zoología
Universidad de Concepción
Concepción
cristianhernand@udec.cl

FAUGERON, SYLVAIN
Facultad de Ciencias Biológicas
Departamento de Ecología
Pontificia Universidad Católica de Chile
Santiago
sfaugeron@bio.puc.cl

En el contexto de la implementación y la aplicación de la metodología molecular propuesta, se requiere un fuerte apoyo desde entidades gubernamentales y privadas con la finalidad de facilitar etapas como obtención de muestras desde centros, obtención de muestras de ovas importadas para generar perfil genético previo a su distribución en Chile, e información relevante de los centros de cultivo. Es así que se destaca el papel de la Subsecretaria de Pesca, el Servicio Nacional de Pesca, ADUANA, el Servicio Agrícola Ganadero y las empresas en temas como:

- a) Generar estándares y guías para la creación y certificación de laboratorios de referencia nacionales para la aplicación de metodología molecular propuesta.
- b) Identificar laboratorios contrapartes internacionales para verificación de la metodología propuesta en caso de incertidumbre.
- c) Diseñar e implementar programas de monitoreos y muestreos regulares en los centros de cultivo para generar sus perfiles genéticos (en particular de sus reproductores), información necesaria para el análisis de asignación de ejemplares escapados.
- d) Diseñar e implementar programas de monitoreo y muestreo regulares de las ovas ingresadas a Chile, con las finalidad de generar su perfil genético previo a su distribución en el país.
- e) Diseñar e implementar programas de monitoreos y muestreos regulares de salmones de vida libre para generar sus perfiles genéticos.

3.6. Análisis FODA para marcadores moleculares aplicado en la identificación de salmones escapados.

3.6.1. Fortalezas

1. Alta reproducibilidad de los marcadores. Es posible realizarlo en cualquier laboratorio especializado.
2. Alta variabilidad genética del grupo-objetivo.
3. Utilización de poca cantidad de ADN.
4. Posibilidad de utilización de marcadores microsatélites aisladas en especies cercanamente emparentadas, como marcadores heterólogos.
5. La técnica permite no estresar a los individuos de planteles reproductivos y alevines, con marcas erosivas en la piel o marcaje con tag.
6. Ventajas de loci microsatélites en relación al modo de herencia (codominantes) en comparación con marcadores RAPD (dominantes) y ADNmt (uniparental).
7. Ventajas de loci microsatélites en relación al polimorfismo, altamente polimórfico en comparación con marcadores alozimas que tienen bajo polimorfismo.
8. Metodología molecular más utilizada actualmente a nivel mundial para la caracterización de individuos, planteles y poblaciones naturales.
9. Disminución de costos dado que la técnica permite la realización de PCR múltiples.
10. Capacidad técnica para implementar la metodología es manejada en Chile por varios laboratorios.
11. La obtención de materiales e insumos son de fácil obtención en Chile.
12. Alto número de loci microsatélites desarrollados para salmón coho y especies cercanamente emparentadas.

3.6.2. Oportunidades

1. En Chile no hay laboratorios ni empresas que presten el servicio en relación a la problemática de escapes de salmones.
2. Para las empresas acuícolas el caracterizar a los planteles reproductivos con los cuales abastecen a sus centros les dará información genética importante para el conocimiento del perfil genético de sus centros.
3. Para las empresas acuícolas y en especial en salmonicultura en Chile les dará mayor credibilidad a exportaciones de salmón a países desarrollado.
4. Trazabilidad de sus productos.

5. Para las empresas, en caso de siniestro apoyarse de manera irrefutable que son sus salmones.
6. Para entes fiscalizadores, en caso de escapes intencionales para afirmar a que centro pertenecen los salmones escapados.

3.6.3. Debilidades

1. En otras especies cultivables cuando no cuenta con marcadores heterólogos la inversión inicial para obtener loci microsátélites es de alto costo, este no es el caso para salmónidos. Es necesario personal con experiencia en biología molecular.
2. Falta de legislación en Chile para fiscalizar escapes.
3. Falta de peritos para la fiscalización en Chile a centros de cultivo referente a temáticas de escapes de salmones.
4. Falta de programas de fiscalización referente a escapes de salmones.

3.6.4. Amenazas

1. La poca accesibilidad de información básica por parte de las empresas referente a planteles reproductivos (estables o cambian temporalmente).
2. La poca accesibilidad de información básica por parte de las empresas referentes a cepas presente en los centros, origen de las ovas y modo de cruzamiento de los planteles reproductivos (intercambio de reproductores entre centros).
3. La poca accesibilidad de información básica por parte de las empresas referente a enfermedades presentes en los centros de cultivo.

4. GUÍA METODOLÓGICA PARA LA IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICAS MOLECULARES EN LA IDENTIFICACIÓN DE SALMÓNIDOS ESCAPADOS DESDE CENTROS DE CULTIVOS. *ONCORHYNCHUS KISUTCH* UN CASO DE ESTUDIO.

4.1. Introducción

La identificación de poblaciones genéticamente diferenciadas, migrantes entre poblaciones y origen de individuos a poblaciones no es tarea fácil. En el caso de individuos provenientes de centros de cultivo, identificar escapes implicaría un marcaje masivo de todos los individuos que se encuentran en centro de cultivo, incluyendo métodos químicos, transductores pasivos y barras codificadas magnéticamente lo que no es una opción realista debido al alto costo, restricciones biológicas y sometimiento a estrés. Por un lado tenemos los métodos tradicionales, no genéticos en identificación de especies de cultivo y naturales, en estos encontramos: marcas de identificación externa, morfología y morfometría, escala y reconocimiento de patrones en otolitos y marcadores fisiológicos y bioquímicos. Si bien estas, marcas han sido utilizadas y han dado buenos resultados en una variedad de casos, presentan problemas, como por ejemplo, dificultad para colocar marcas de identificación externa en peces de pequeño tamaño, pérdida de marcas, etcétera.

Por otro lado, encontramos los métodos basados en ADN, los cuales utilizan la huella genética (marcadores moleculares), huella que es inherente a cada individuo, no se pierde como las marcas de identificación externa, no es necesario matar al individuo, no se ve influenciado por el ambiente donde se encuentre (marcadores neutrales) y una de las ventajas mas importantes es que esta huella genética es heredable. Esta última característica permite identificar la descendencia de individuos en centros acuícolas o identificar escapes hacia poblaciones naturales.

4.2. Objetivos del manual

Este manual tiene como objetivo entregar las herramientas técnicas para la utilización de marcadores moleculares que puedan ser útiles para la identificación de salmones escapados utilizando como modelo de estudio *Oncorhynchus kisutch*. Además se entrega un listado sistemático de materiales que son necesarios para la implementación (materiales, reactivos y equipos) de un laboratorio y distribuidores en Chile que proveen de estos. Este manual forma parte de los resultados del proyecto del Fondo de Investigación Pesquera 2008-30 “EVALUACIÓN CUANTITATIVA DEL ESTADO TRÓFICO DE SALMONÍDEOS DE VIDA LIBRE EN EL FIORDO AYSÉN, XI REGIÓN”.

4.3. Tamaño de la muestra

Un punto crítico a considerar en el diseño de muestreo es el número de loci e individuos que se deben muestrear para obtener importante información. En el caso de marcadores moleculares tipo microsatélites, consideraciones teóricas (Pamilo & Nei 1988; Weir 1990) establecen que la resolución y calidad de los datos es mejorada si un gran número de loci son examinados; esto es particularmente cierto si los loci examinados exhiben

moderados niveles de diversidad alélica. Así el número de individuos a ser muestreados dependen principalmente del número de alelos presentes en cada locus examinado. Cuando la diversidad alélica es baja, pocos individuos son necesarios en el análisis. Sin embargo, en el caso de loci hipervariables, un gran tamaño muestral es necesario para determinar frecuencias alélicas con confianza estadística. Por ejemplo, con un promedio de 25 alelos por población, simulaciones sugieren que aproximadamente 115 individuos deben ser analizados de cada población (Kornfield & Parker 1997).

La relación empírica derivada de estas simulaciones establece que el número de muestras para análisis de microsatélites en poblaciones es:

$$\text{Tamaño Muestral} = 1.5 (\text{Número de alelos})^{1.35}$$

De manera alternativa se puede realizar un análisis de rarefacción, el cual estima el número de muestras representativas para cuantificar la diversidad genética en las muestras. Este análisis se realiza en el software RAREFAC (Petit et al. 1998) disponibles en la página web <http://www.pierroton.inra.fr/genetics/labo/Software/Rarefac/index.html>.

4.4. Manipulación, almacenamiento y transporte de las muestras

Una vez obtenidas las muestras a analizar (ejemplares) es necesario obtener el material biológico (musculatura, sangre, aleta, hueso, etc) del cual se obtendrá el ADN genómico para posteriormente aplicarle la batería de marcadores moleculares microsatélites estandarizados por Acuigen. Todas las muestras deberían ir acompañadas de muestreo biológico (sexo, talla, peso, edad, presencia de parásitos, etc).

4.5. Guía e instrucciones de muestreo en campo

4.5.1. Desde musculatura blanca o aleta:

1. Extraer de cada ejemplar un trozo de musculatura blanca (puede ser del sector del lomo tejido de tamaño aproximado 1x1x1 cm) o aleta caudal, el trozo disectado debe depositarse en un tubo de transporte de 10 ml que contenga Alcohol Etilico Puro (96%).
2. La muestra debe estar limpia sin piel ni escamas, pues estas contienen bacterias que pueden contaminar la muestra. La relación muestra/volumen alcohol en el tubo debe ser 1:9, es decir, la muestra debe quedar flotando en el tubo, para tal efecto y si es necesario, seccionar en pequeños trozos el tejido muestreado.
3. Para la disección del tejido se debe usar un bisturí y pinzas limpias para cada animal, (esto evita la contaminación cruzada entre individuos que puede llevar a errores en los resultados). Para este efecto limpiar con papel absorbente, lavar con agua destilada la hoja del bisturí y la pinza utilizada cambiando la hoja lo más frecuentemente.
4. Luego de depositar el tejido en el tubo de transporte, colocar en un interior un trozo de papel diamante con el código de la muestra escrito con lápiz mina, NO utilizar

lápiz pasta o de otra material (el alcohol se encarga de borrar el rotulo además de contaminar la muestra con colorantes).

5. Para finalizar cerrar bien el tubo y sellar con un trozo de parafilm.

4.5.2. Desde células sanguíneas:

1. Extraer de cada ejemplar sobre 300 ul de sangre (este volumen podría variar dependiendo del tamaño del pez, a peces mas grandes se podría extraer mayor volumen), el volumen obtenido debe depositarse en un tubo de transporte con anticoagulante (EDTA, Heparina).
2. Para finalizar cerrar bien el tubo y sellar con un trozo de parafilm.

5. Protocolos de Extracción de ADN

5.1. Protocolo de Extracción Sales

1. Cortar un trozo de tejido y depositarlo en un tubo de 1.5ml.
2. Congelar la muestra con N2 liquido y triturarla con un homogenizador (opcional)
3. Agregar 500 ul de buffer A (pH 7.5) (100 mM Tris-HCl pH 7.5; 100 mM EDTA; 100 mM NaCl; 0.5% SDS (p/v)) y triturar energéticamente la muestra con el homogenizador.
4. Agregar 5 ul de proteinasa K 20 mg/ml y mezclar invirtiendo varias veces.
5. Incubar el tubo a 65°C en termoblock (incubadora o estufa) por 2 hrs. Agitar las muestras cada 20 min.
6. Agregar 570 ul de LiCl 6M más 230 ul de KAc 5M e incubar en hielo por 20 min.
7. Centrifugar a 12000x g (aprox 11000 rpm) por 15 min y transferir 900 ul del sobrenadante a un tubo nuevo de 1.5 ml. (EVITE TRANSFERIR MATERIAL PARTICULADO)
8. Agregar 550 ul de Isopropanol frio (en hielo) y agitar energéticamente.
9. Centrifugar a 12000 x g (aprox 11000 rpm) por 15 min y desechar por completo el sobrenadante (aquí se observa el pellet).
10. Lavar el pellet con 500 ul de etanol 70% frio (-20°C) por 2 a 3 min. (vortear primero)
11. Centrifugar a 12000 x g (aprox 11000 rpm) por 10 min, desechar por completo el sobrenadante y secar el pellet a 37°C por 5 min máximo.
12. Resuspender el pellet en buffer TE 0.1X (volumen según el tamaño del pellet).

5.1.1. Protocolo de extracción de ADN (CTAB-PVP)

1. Transferir entre 50 y 100 mg de tejido a un tubo eppendorf de 1,5 mL. Agregar 500 μ l de buffer CTAB 2X (100 mM Tris HCl; pH 8,0; 20 mM EDTA; 1,4 M NaCl ; 2% CTAB; 2% PVP y 0,3% β -mercaptoetanol) y 12,5 μ l de proteinasa K (10 mg/mL)
2. Tijeretear el tejido. Incubar toda la noche a 37°C.
3. Realizar extracción del material orgánico agregando un volumen de 500 μ l de una mezcla de Fenol saturado: Cloroformo:Alcohol isoamílico (25:24:1) se agita por inversión por 1 a 2 minutos.
4. Centrifugar los tubos a 8000 rpm por 18 minutos.
5. Transferir el sobrenadante a un nuevo tubo y se repite la extracción del material orgánico con la mezcla Fenol saturado: Cloroformo:Alcohol isoamílico (25:24:1).
6. Centrifugar los tubos a 8000 rpm por 18 minutos.
7. Transferir el sobrenadante a un nuevo tubo y se elimina el residuo fenólico con 500 μ l de solución Cloroformo:Alcohol isoamílico (24:1).
8. Centrifugar los tubos a 8000 rpm por 18 minutos.
9. Transferir el sobrenadante a un nuevo tubo y agregar 700 μ l de etanol absoluto previamente enfriado a -20°C. Mezclar suavemente por inversión y guardar por 20 minutos a -20°C
10. Centrifugar los tubos a 8000 rpm por 20 minutos.
11. Eliminar el etanol absoluto y lavar una vez con etanol 70% (500 μ l).
12. Centrifugar los tubos a 8000 rpm por 5 minutos.
13. Finalmente, eliminar el etanol 70% y dejar secar el pellet al aire. Resuspender en 50 μ l de agua de PCR a 37°C por 2 a 3 horas (agitar los tubos ocasionalmente).

5.1.2. Extracción de DNA con fenol - cloroformo

1. Cortar un trozo de tejido (~100 mg), lavarlo en agua y cortarlo en trocitos.
2. Introducir el tejido en un tubo eppendorf de 1.5mL con 300 μ L de buffer de lisis. (0.1M Tris; 0.01M EDTA; 0.1M NaCl; 1% SDS; pH=0.8). Añadir 30 μ L de Pronasa (=Proteinasa K 10mg/ml), vórtex fuerte unos segundos e incubar a 40°C 15 horas (de 1 a 2 horas) o hasta que el tejido esté completamente disuelto.
3. Se añaden 150 μ L de NaCl 5M y se mezcla fuertemente durante 2 minutos.
4. Centrifugar a 12.000rpm durante 5 min. (mucopolisacáridos precipitan junto con las proteínas).

5. Transferir el sobrenadante a un tubo limpio y añadir 150µL de NaCl 5M; mezclar fuertemente durante 2 min. Centrifugar 12.000rpm 5 min.
6. Cuidadosamente, transferir el sobrenadante a un tubo limpio y precipitar el DNA con 0.2M final de NaCl (40µL) y 2 volúmenes de etanol puro.
7. Centrifugar 12.000rpm durante 10 min., eliminamos el sobrenadante con una jeringuilla y resuspendemos con 300µL de H₂O con la pipeta.
8. Añadir 5 µL RNAsa (1mg/mL) y dejarlo a temperatura ambiente durante 1 hora en el rotamix.
9. Mezclar por inversión con 1 volumen de Phenol:Chlorophorme:Isoamyl alcohol (25:24:1). Rotamix 30 min.
10. Centrifugar a 8000rpm durante 5 min.
11. Transferir el sobrenadante a un tubo limpio y mezclar con 1 volumen de Chlorophorme:Isoamyl alcohol (24:1) mezclar bien, rotamix, 10 min. (a mano).
12. Centrifugar a 8000rpm durante 5 min.
13. Transferir el sobrenadante a un tubo limpio y añadir 2 volúmenes de etanol puro. Mezclar por inversión. Incubar 10 min. a -20°C. Centrifugar a 12000rpm , 4°C, durante 12 min.
14. Eliminar el sobrenadante (con jeringa a pipeta) y lavar el pellet en alcohol al 70% (500µL). Centrifugar 5min a 13000rpm, 4°C.
15. Eliminar el alcohol con una jeringa y después con pipeta. Secar el pellet en speed vacuum (5min. 45°C) y resuspender en TE o H₂O (100µL).

5.1.3. Otros protocolos

Si desea utilizar otro protocolo, le recomendamos hacer revisar los siguientes artículos:

1. Cummings S.A. & Thorgaard G. H. (1994) Extraction of DNA from fish blood and sperm. *Biotechniques* 17(3):426-430.
2. Lopera-Barrero N.M., Povh J.A, Ribeiro R.P., Gomes P.C., Jacometo C.B. da Silva Lopes T. (2008). Comparison of DNA extraction protocols of fish fin and larvae samples: modified salt (NaCl) extraction. *Cien. Inv. Agr.* 35(1): 65-74.
3. Aljanabi, S.M., Martinez I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* 25:4692-4693.
4. Aranishi, F. (2006). Single fish egg DNA extraction for PCR amplification. *Conservation Genetics* 7:153-156.

5. Chakraborty A., Sakai M. Iwatsuki Y. (2006). Museum fish specimens and molecular taxonomy: A comparative study on DNA extraction protocols and preservation techniques. *Journal of Applied Ichthyology* 22:160-166.
6. Livia L., Antonella P., Hovirag L., Mauro N., Panara F. (2006). A nondestructive, rapid, reliable and inexpensive method to sample, store and extract high-quality DNA from fish body mucus and buccal cells. *Molecular Ecology Notes* 6:257-260.
7. Wasko A.P., Martins C., Oliveira C., Foresti F. (2003). Non-destructive genetic sampling in fish. An improved method for DNA extraction from fish fins and scales. *Hereditas* 138:161-165.
8. Yue G.H., Orban L. (2001). Rapid Isolation of DNA from Fresh and Preserved Fish Scales for Polymerase Chain Reaction. *Marine Biotechnology* 3:199-204.

5.2. Marcadores moleculares: Microsatélites

Los microsatélites (SSRs, Simple Sequence Repeats; STRs, Short Tandem Repeats), corresponden a secuencias de ADN repetidas en tandem, con unidades o motivos de repetición que poseen entre uno a 6 pb, y organizadas en bloques de 20 a unos pocos cientos de bases (Beckmann & Weber 1992). Presentan una amplia distribución a lo largo del genoma (O'Connell & Wriarth. 1997) y muestran altos niveles de polimorfismo alélico (Tautz 1989) debido a sus altas tasas de mutación que presentan (10^{-2} - 10^{-6} por locus por generación) (Ellegren 2000) los convierten en la mayoría de los casos en marcadores moleculares hipervariables tanto a nivel específico como poblacional (Chistiakov et al. 2006). Presentan un patrón de herencia codominante, fácilmente amplificado por PCR (De Woody & Avise 2000; Chistiakov et al. 2006). Se ubican usualmente en regiones intergénicas no codificante del ADN nuclear (Chistiakov et al. 2006) aunque también se han encontrado en genomas organelares (cloroplastidial) de algunas plantas (Powell et al. 1995). Estos marcadores son considerados selectivamente neutros, sin embargo diferentes estudios han provisto de relevancia funcional en un significativo número de SSRs.

La alta variabilidad de los loci microsatélites permite realizar estudios individualizados, con la posibilidad de encontrar combinaciones genotípicas únicas para cada individuo y familia con muy pocos loci (Estoup & Angers 1998). Este hecho ha potenciado en los últimos años los estudios que utilizan loci microsatélites para esclarecer estrategias reproductivas de las especies, estimar números efectivos de poblaciones y sus fluctuaciones en el tiempo y determinar relaciones genéticas entre individuos con origen desconocido en poblaciones naturales y en cultivo, entre otros objetivos (Jones & Avise. 1997; Kornfield & Parker 1997; Estoup et al. 1998; García de León et al. 1998; Pérez-Enríquez et al. 1999; Norris et al. 2000) teniendo frecuentemente resultados altamente concluyentes.

5.2.1. Análisis de loci microsatélites para determinación de origen de salmónes escapados; *O. kisutch*.

A continuación se expone un listado de siete loci microsatélites estandarizados para la especie *O. kisutch*, por el Laboratorio de Genética y Acuicultura de la Universidad de Concepción (Acuigen <http://www.udec.cl/~acuigen/>); Ogo2, Ogo1a, Ocl8, OMM1121, Oki1, OMM1128 y Oneμ2.

El extracto de ADN de las muestras en estudio deben estar preparadas a 20ng de ADN genómico por microlitro de dilución (u a otra dilución de concentración conocida de ADN). Posterior a la dilución de las muestras se procede a la amplificación mediante PCR de los loci microsatélites que aparecen en Tabla 58, donde se indica las secuencias de los partidores de cada microsatélite con su respectivo fluoróforo que permite el análisis de fragmentos en un secuenciador. Se indica además el autor de estos microsatélites para más detalles de los mismos, el programa de amplificación utilizado en el termociclador, y la Taq polimerasa requerida para obtener óptimos resultados.

Las condiciones de PCR de cada microsatélite se indican en Tablas 59 y 60 para un volumen de amplificación final de 10 μL. En todos los ensayos debe utilizar controles negativos (reacción con todos los reactivos, menos el ADN, se lleva a un volumen final de PCR de 10 μL con agua de PCR), con el fin de detectar contaminación que pueda distorsionar los resultados. Controles positivos pueden ser proporcionados por Acuigen, UdeC.

El producto de PCR de cada microsatélite se visualiza en un secuenciador por capilar ABI PRISM 3730xl de Applied Biosystems, se pueden utilizar otros equipos de secuenciación pero siempre utilizando GeneScan™ 500 LIZ® (Applied Biosystems) como marcador de peso molecular. Para el análisis de fragmentos amplificados, del producto amplificado por PCR (alelos de los microsatélites) mezclar 2ul serán con 10ul de formamida, y 0.2ul del estándar de peso o tamaño en pares de bases GeneScan™ 500 LIZ®. Posteriormente la mezcla debe ser denaturada incubando a 95°C por 2 minutos y cargar en secuenciador ABI 3730xl de Applied Biosystems. La carga de las muestras se puede llevar a cabo en capilares de 36 o 50 cm sobre el polímero POP4 o POP7, con 10 segundos como tiempo de inyección, voltaje de 12V y con un tiempo de corrida de 45 minutos.

La asignación del tamaño alélico y la determinación de los genotipos de cada individuo puede ser realizado utilizando el software Peak Scanner v1.0 (Applied Biosystems) que está libre en internet (https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/adirect/ab?cmd=catNavigate2&cat_ID=603624). Programas equivalentes de genotipificación como GeneMapper® v4.0 GeneScan®, Genotyper® v3.7 todos de Applied Biosystems, pueden ser utilizados pero necesita adquirir una licencia.

Tabla 58: Características de microsatélites útiles para la evaluación de ejemplares escapados desde centros del salmónido *O. kisutch*.

Microsatélite	Secuencia Partidores	Referencia	Rango de tamaño (pb)	Programa de Amplificación/Taq	Motivo de repetición
OMM1121	F 5'-(PET)CTGCCAATGTTTGTCTATG-3' R 5'-GGCTGTCAATCTGTCTTCTAC-3'	(2001)	187–198	Touchdown2/Biotools	(TAGA) ₇ Tetranucleótido
OMM1128	F5'-(6-FAM)CCACATCCTAGAACCGTTGA-3' R 5'-CAATACACAGCACCAACAACC-3'	(2001)	199–319	Oki3/Invitrogen	(TCTA) ₁₄ Tetranucleótido
Ogo2	F 5'-(PET)ACATCGCACACCATAAGCAT-3' R 5'-GTTTCTTCGACTGTTTCCTCTGTGTTGAG-3'	Olsen et al. (1998)	234–264	Touchdown1/Biotools	(GA) ₂₄ Dinucleótido
Ocl8	F 5'-(NED)TAGTGTTCCGTGTTTCGCCTG-3' R 5'-CACCTTCCATCTCTCATTCCAC-3'	Condrey and Bentzen (1998)	97–135	Touchdown1/Biotools	(GT) ₄₆ Dinucleótido
Oneμ2	F 5'-(VIC)GGTGCCAAGGTTTCAGTTTATGTT-3' R 5'-CAGGAATTTACAGGACCCAGGTT-3'	Scribner et al. (1996)	185–275	Oki4/Invitrogen	(GA) ₁₁ Dinucleótido
Oki1	F 5'-(VIC)AGGATGGCAGAGCACCACT-3' R 5'-CACCCATAATCACATATTCAGA-3'	Smith et al. (1998)	90-200	Touchdown2/Biotools	(CTGT) ₁₈ Tetranucleótido
Ogo1a	F '-(6-FAM)GATCTGGGCCTAAGGGAAAC-3' R 5'-ACTAGCGGTTGGAGAACCC-3'	Olsen et al. (1998)	110-154	Touchdown1/Biotools	(GTCT) ₂₆

Tabla 59: Condiciones de amplificación para los microsatélites Ogo2, Ogo1a, Ocl8, OMM1121 y Oki1, en el salmónido *O. kisutch*.

Reactivos	Concentración Final
Agua PCR	enrasar a 10ul
Tampón PCR	1x
MgCl ₂	1,5mM
dNTPs	0,2mM
P1	0,2uM
P2	0,2uM
Taq Polimerasa	0,5 Unidades
ADN genómico	10ng/ul

Tabla 60: Condiciones de amplificación para los microsatélites OMM1128 y Oneµ2, en el salmónido *O. kisutch*.

Reactivos	Concentración Final
Agua PCR	enrasar a 10ul
Tampón PCR	1x
MgCl ₂	1,5mM
dNTPs	0,2mM
P1	0,2uM
P2	0,2uM
Taq Polimerasa	0,2 Unidades
ADN genómico	10ng/ul

A continuación se indican los programas de amplificación en termociclador PCT-200 thermocycler (MJ-Research®) para los loci microsatélites en estudio en el salmónido *O. kisutch*.

5.3. Análisis estadísticos de las muestras

Una vez obtenido el genotipo multilocus de las muestras en estudio, éstas se deben comparar con la información genética basada en los mismo marcadores moleculares aquí desarrollados provenientes de los centros de cultivo de potencial origen de los ejemplares escapados en evaluación. En este punto es indispensable contar con información referente a las frecuencias alélicas de los microsatélites aquí expuestos para *O. kisutch* de los centros de cultivo referenciales.

Con las muestras ya genotipadas se construye una base de datos al estilo de la Tabla 61, se aconseja construirla en archivos formato.xls, formato que permite generar los archivos de entrada para los análisis estadísticos respectivos.

Tabla 61: Representación de la base de datos multilocus para microsatélites en *O. kisutch*.

Muestra	Microsatélite OMM 1128		ONEu2		OGO2		Ogo1a		Oci8		OMM 1121		OK11		
	Origen	Alelo 1	Alelo 2	Alelo 1	Alelo 2	Alelo 1	Alelo 2								
1	Fiordo 1	257	261	211	239	215	244	112	120	99	101	0	0	112	128
2	Fiordo 1	259	261	225	259	202	236	112	120	96	117	190	192	104	124
3	Fiordo 1	256	261	201	239	202	211	112	112	0	0	195	199	100	104
4	Fiordo 1	248	257	203	203	202	207	120	120	92	99	192	195	100	112
5	Fiordo 1	256	256	203	247	207	215	112	120	101	109	195	199	100	116
6	Fiordo 1	256	259	203	247	202	252	112	112	0	0	195	195	100	116
7	Fiordo 2	257	259	203	209	202	236	112	120	92	113	190	199	100	116
8	Fiordo 2	252	261	203	203	215	236	112	120	109	121	195	199	96	100
9	Fiordo 2	256	256	211	237	202	232	112	112	101	101	192	195	100	100
10	Fiordo 2	259	261	223	259	202	228	112	120	113	123	192	195	100	124
11	Fiordo 2	0	0	203	211	215	240	112	120	99	103	190	195	96	104
12	Fiordo 2	259	261	203	217	0	0	112	120	103	134	192	199	100	108
13	Fiordo 3	256	259	207	225	228	228	120	120	99	103	192	195	96	100
14	Fiordo 3	256	256	217	231	202	202	120	120	96	96	195	199	100	100
15	Fiordo 3	0	0	229	259	228	236	120	120	92	99	195	199	100	112
16	Fiordo 3	0	0	209	229	236	240	120	120	103	113	192	199	100	100
17	Fiordo 3	256	261	227	229	202	228	112	120	109	109	192	195	96	116

5.4. Análisis estadístico para la comparación genética de ejemplares escapados & muestras provenientes de centros de cultivo

Antes de proceder con el análisis de debe establecer la presencia de errores en el genotipado de los loci microsatélites (large alleles dropout y stutter band), y estimar la presencia y frecuencia de estos alelos nulos. La frecuencia de alelos nulos y errores de genotipado se puede estimar con el algoritmo de Brookfield 1 (Brookfield 1996), implementado en el programa Microchecker v2.2.3 (van Oosterhout et al. 2004) disponible en la página web <http://www.microchecker.hull.ac.uk/>.

Para caracterizar la muestra en estudio se debe establecer el número de alelos (N_a), heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e) según equilibrio de Hardy Weinberg, e índice de Fijación (F_{is}), para esto se recomienda utilizar el programa GENALEX v6 (Peakall & Smouse 2006) disponible en la página web <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenALEX/>.

Desviaciones al equilibrio de Hardy & Weinberg (H&W) mediante un test exacto puede ser implementado en el programa ARLEQUIN v.3.10 (Excoffier et al. 2005) (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>). Los niveles de diferenciación genética entre muestras se aconseja sean estimados mediante el índice R_{st} por pares (Slatkin 1995), basado diferencias en tamaños alélicos, y un análisis jerárquico de la varianza molecular (AMOVA), en el programa ARLEQUIN v.3.10 (Excoffier et al. 2005). Complementariamente se debe estimar el índice R_{st} por locus, para así determinar el poder de cada loci microsatélite en discriminar diferencias significativas. El valor de probabilidad para cada análisis se recomienda realizar mediante 10000 permutaciones.

Como parte central del análisis se expone un listado de programas para el análisis de asignación o exclusión de los individuos analizados a los centros de cultivo referenciales.

Para este fin dos aproximaciones son utilizadas, asignación individual o parentesco. En general, para ambas encontramos tres tipos de aproximaciones: basadas en Likelihood, Bayesianas y Distancia genética.

6. Programas de asignación y parentesco:

GENECLASS V2.0 (Piry et al. 2004): Este programa utiliza genotipos multilocus individuales para realizar una prueba de asignación. Este programa utiliza dos tipos de métodos basados en *likelihood*, y metodología basada en el teorema de *Bayes*. Además, métodos basados en *distancia genética*, los individuos son asignados con un nivel de probabilidad a la población genéticamente más parecida. Este programa esta disponible en: <http://www1.montpellier.inra.fr/URLB/geneclass/geneclass.html>.

BAPS v2 (Corander et al. 2004): Programa que asigna individuos a poblaciones utilizando metodología bayesiana. Utiliza genotipos multilocus y/o datos de secuencias de ADN. Este programa esta disponible en: <http://www.abo.fi/fak/mnf/mate/jc/software/baps.html>.

GENALEX (Peakall & Smouse 2006): Programa basado en hojas de cálculo excel incluye un test de asignación, es fácil y amigable de utilizar. Esta disponible en: <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx/>

ESTRUCTURE (Pritchard et al. 2000; Falush et al. 2003; Falush et al. 2007): Este programa utiliza genotipos multilocus para determinar estructura poblacional, además de inferir: número de agrupaciones genéticas presentes en una muestra, asignación individual a poblaciones, estudios de zonas híbridas, identificación de migrantes, entre otros. Puede ser utilizado en marcadores genéticos tales como SNPs, Microsatélites, RFLPs y AFLPs. Este programa esta disponible en: <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>

WHICHRUN (Banks & Eichert 2000): Programa el cual utiliza genotipos multilocus para asignar individuos a poblaciones. Este programa esta disponible en: <http://www-bml.ucdavis.edu/whichrun.htm>

WHICHLOCI (Banks et al. 2003): Programa que utiliza genotipos multilocus para determinar el poder relativo discriminatorio de loci genéticos y combinaciones de estos loci para la asignación de individuos a poblaciones referenciales <http://www-bml.ucdavis.edu/whichloci.htm>.

ARLEQUIN (Schneider et al. 2000): programa ampliamente utilizado para análisis poblacionales, dentro de su amplia gamma de opciones de análisis presenta una de asignación de genotipos individuales a poblaciones. Este programa esta disponible en: <http://lgb.unige.ch/arlequin/>

COLONY (Wang 2004): Este programa esta escrito en Fortran e implementa metodologías basadas en Likelihood que asignan individuos de una muestra de subfamilias anidados en colonias, usando datos genéticos codominantes como los microsatélites. Puede inferir acerca de apareamientos polígamos o monógamos entre otros. Este programa esta disponible en: <http://www.zoo.cam.ac.uk/ioz/software.htm#COLONY>.

PARENTE (Cercueil et al. 2002): Determina maternidad, paternidad o ambos potenciales padre usando genotipos multilocus y fechas de nacimiento y muerte de individuos (si están disponibles). Además calcula la probabilidad de éxito de la asignación de un individuo a la descendencia de sus padres. Este programa está disponible en: <http://www-leca.ujf-grenoble.fr/logiciels.htm>

7. Perfil del equipo técnico

Para realizar los análisis genéticos aquí presentados es necesario contar con un grupo de profesionales, entre técnicos, profesionales superiores y administrativos, calificados para el trabajo en laboratorio de biología molecular ó afines.

- Competencias que debe tener un técnico:
- Manejo de residuos peligrosos de laboratorio
- Manejo de química, biología y química analítica
- Identificación, manejo y mantenimiento de equipos y reactivos
- Comprensión y manejo de protocolos de laboratorio
- Curso de primeros auxilios
- Pro-actividad

Competencias que debe tener un profesional superior del área biológica con experiencia en desarrollo y aplicación de marcadores moleculares

- Manejo teórico-práctico de técnicas de análisis de ADN
- Manejo teórico de genética de poblaciones
- Manejo teórico de evolución molecular en poblaciones naturales y en cautiverio
- Manejo teórico-práctico de obtención, modelos de mutación y utilidades de loci microsátélites
- Manejo teórico-práctico de software de análisis de datos microsátélites
- Elaboración de informes de análisis de resultados, interpretación, conclusión.

Los profesionales superiores que poseerían las capacidades antes mencionadas ser serían: profesional del área de Ciencias Biológicas, Ciencias Naturales, entre otros.

8. Montaje de laboratorio

- Para montar un laboratorio es necesario contar con equipos, reactivos y materiales *ad hoc* a las metodologías moleculares que se exponen en el presente manual, un listado de elementos básicos para poder montar y colocar en marcha un laboratorio se encuentra en la Tabla 62.

Tabla 62: Materiales y reactivos necesarios para montar un laboratorio

Equipos	Material de Vidrio	Reactivos
Estufa	Pipeta de vidrio (5, 10 ml)	Extracción de ADN
Congeladora Horizontal	Matraces (25, 50, 100, 200 ml)	Agua destilada
Balanza Analítica	Vasos de precipitado (25, 50, 100, 200, 500, 1000 ml)	Agua ultrapura (Sin DNasa y RNasa)
Refrigerador Vertical	Probeta (100, 500, 1000 ml)	Cloruro de Litio
Ultra Freezer -86°C	Placas petri	Acetato de Potasio
Fuente de Poder 1000 V		Detergente CTAB
Transiluminador Ultravioleta		Detergente SDS
MicroCentrifuga Refrigerada	Material fungible	EDTA
pHmetro.	Puntas (10 µL, 200 µL y 1000 µL)	TRIS
Equipo Foto documentación	Tubos (0.2 mL, 0.6 mL, 1.5 mL, 2 mL y 50 mL)	NaCl ₂
Cámara de Electroforesis horizontal	Parafilm	Etanol absoluto (para análisis)
Destilador de agua	Hoja de bisturios	Isopropanol
Biofotometro		Proteinasa K
Termociclador con gradiente		PCR
Agitador Incubador		dNTP's
Set Micropipetas (2, 10, 100, 200, 1000 ul)		MgCl ₂
Microonda.		Pareja de Primer 1-12 (Ver detalles)
Vortex		Taq Polimerasa
Agitador PMC		Buffer de Taq
Autoclave		Agarosa

9. DISCUSIÓN

Hay bastante literatura asociada a marcadores moleculares y salmónidos, alozimas, ADN mitocondrial y ADN nuclear, así como, link a bases de datos genéticas, donde es posible descargar información más detallada de los marcadores moleculares, en este caso para salmónidos (ejemplo: www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Estos marcadores moleculares, así como genomas completos se han utilizado para la caracterización de cepas de cultivo, poblaciones nativas o ambas. La importancia económica de este recurso ha generado mucha investigación relacionada con caracterizaciones moleculares de salmónidos, esto principalmente para el conocimiento de poblaciones naturales, determinación de endogamia en centros de cultivo y ejecución de programas de selección asistida por marcadores. La mayoría de la información es de origen extranjero, en Chile el conocimiento genético de las especies y cepas que se cultivan es nulo.

Si bien diversos marcadores moleculares han sido utilizados en la caracterización genética de salmónidos los más importantes y efectivos son los microsátélites. La ventaja comparativa con otros marcadores es su alto polimorfismo, modo de herencia, co-dominancia y alta reproducibilidad en cualquier laboratorio. El uso de genotipos multilocus (varios loci microsátélites por individuo) puede llegar a identificar a nivel individual o asignar mediante el genotipo multilocus al lugar de procedencia del individuo. Otra de las ventajas recopiladas en esta revisión bibliográfica es que a diferencia con otros métodos de identificación de salmónidos de cultivo y nativos, tales como: a) Morfológicos (Erosiones de aletas y cola, peso, tamaño y lesiones en opérculos) (e.g. Lura & Økland, 2009,); b) Perfiles de ácidos grasos (e.g. Thomas et al. 2008); c) Pigmentos como astaxantina y cantaxantina (e.g. Lura & Økland, 2009, Webb et al 2008); d) Adherencias intra abdominal post vacunación (Lund et al. 1997); e) Perfiles de isótopos estables (e.g. Thomas et al. 2008) y f) elementos traza en otolitos (e.g. Veinott & Porter, 2005), estos están influenciados por el ambiente en donde se encuentren, en cambio el ADN es una huella genética única que difiere entre cada individuo.

El análisis FODA nos dice que hay mayor número de Fortalezas y Oportunidades, esto principalmente debido a que aunque se puede considerar una técnica difícil de reproducir, cualquier laboratorio de biología molecular con implementación básica podría aplicar la técnica de identificación de salmónidos escapados. La experiencia en el extranjero, principalmente en Noruega ha dado muy buenos resultados se está implementado en sus políticas y es un análisis de rutina en el directorio de pesquería de este país (Glover & Skaala, 2009).

En resumen, hay bastante información y este trabajo entrega información relevante a futuros estudios, creación de laboratorios especialistas en el área de identificación de salmónidos escapados o cualquier especie hidrobiológica cultivada en Chile, así como entregamos una de las herramientas más precisas para la identificación y asignación a poblaciones. Finalmente esta información sería útil en fiscalizaciones futuras para resolver problemas de salmónidos escapados y para las empresas conocer el perfil genético de sus reproductores lo que generaría un valor agregado en cuanto a trazabilidad de sus productos y poder realizar futuras selecciones asistidas por marcadores moleculares.

V. Comprobar la factibilidad de aplicar esta metodología en el Fiordo Aysén con la caracterización de salmonídeos capturados (objetivo 5).

Cristian B. Canales-Aguirre¹, Sandra Ferrada¹ & Ricardo Galleguillos¹

¹Universidad de Concepción.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha comenzado a aplicar en Noruega la utilización de marcadores genéticos para identificar escapes de peces marinos desde centros de cultivo. La utilización de estos marcadores moleculares fue implementada satisfactoriamente en la identificación de escapes en salmones, trucha arcoiris y bacalao común (*Gadus*) (Glover & Skaala 2009). Tal importancia ha tomado esta metodología que en noruega ya es un análisis de rutina por el directorio de pesquería de este país ((Glover & Skaala 2009). Los marcadores moleculares que han dado este éxito en la identificación de individuos escapados desde centros de cultivo son los microsatélites. Estos son pequeñas secuencias de ADN, las cuales están formadas por motivos básicos repetidos (e.g. (TG)₅ = TGTGTGTGTG), están ampliamente distribuidos en el genoma, son codominantes (variantes alélicas pueden ser identificadas) y principalmente por su alto polimorfismo. Estas dos últimas características han hecho que los microsatélites sean muy utilizados en genética forense (identificación individual) para casos de paternidad, casos judiciales y asignación a pools genéticos idiosincráticos.

Por otro lado, nuevos avances metodológicos y algoritmos que utilizan bases de datos moleculares (genotipos multilocus) han sido de gran ayuda para responder preguntas asociadas a estructuración poblacional, relaciones de parentesco y asignación o exclusión de individuos a pools genéticos (clasificación a nivel individual) (Estoup & Angers 1998). En Chile, solo un estudio utilizando tres loci microsatélites está asociado a la identificación de salmones asilvestrados o escapados desde centros de cultivo (Astorga et al. 2008). Los resultados indicaron que las poblaciones de salmones desovantes en el río Petrohué actualmente no son explicadas por posibles escapes desde los grupos de salmones de cultivo, sino más bien corresponderían a poblaciones generadas desde los grupos liberados con fines de repoblamiento antes del comienzo de su cultivo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Muestras

Las muestras de *Oncorhynchus kisutch* fueron recolectadas desde cinco centros de cultivo establecidos en el Fiordo Aysén y dos muestras provenientes del Fiordo Aysén (i.e. Fiordo 2 y Fiordo 3) tomados en diferentes tiempos (Julio 2009 y Junio 2010, Fiordo 2 y Fiordo 3, respectivamente). Se recolectó un total de 314 muestras, 244 muestras procedentes a los centros de cultivo y 78 muestras procedentes del Fiordo Aysén. Cabe destacar que se sumaron dos centros de cultivo con la finalidad de robustecer el análisis y validar la

técnica. No se pudo acceder a muestras descritas como asilvestradas en la confluencia de los ríos Claro y Simpson, en las cercanías de Coyhaique. La finalidad de obtener muestras de diferentes centros fue caracterizar genéticamente los diferentes planteles que componen cada uno de los centros, así poder asignar los individuos recolectados en el Fiordo Aysén, con los centros de referencias.

2.2. Extracción de de ADN y amplificación de loci microsatélites

Se extrajo un trozo de musculatura esquelética aproximadamente de 50 mg, el cual fue depositado en un tubo tipo Eppendorf de 1,5 ml. A este tubo se le agregó 500 μ L de buffer A, pH 7,5 (100 mM Tris-HCl pH 7.5; 100 mM EDTA; 100 mM NaCl; 0.5% SDS (p/v)) y se trituró el tejido con un homogenizador (e.g. tijeras). Una vez triturado se le agregó 5 μ L de proteinasa K (20 mg/ml) y se mezcló suavemente por inversión. Posteriormente se incubó el tubo a 65°C en una incubadora con agitación (Incubated shaker, puede ser también estufa o termoblock) por dos horas o hasta que el tejido quedara totalmente digerido. Cada 20 minutos se agitó la muestra. Luego de la incubación se le agregó 570 μ L de LiCl 6M y 230 μ L de KAc 5M. Consecutivamente se incubó en hielo por 20 min. Una vez cumplido el tiempo de incubación en frío se centrifugó a 12000g (aproximadamente 11000 rpm) por 15 minutos y luego se transfirió 900 μ L del sobrenadante a un tubo nuevo de 1,5 ml, teniendo cuidado de no traspasar material particulado. Luego se agregó 550 μ L de Isopropanol previamente enfriado a -20°C y se agitó energéticamente. Paso posterior, se centrifugó a 12000g (aproximadamente 11000 rpm) por 15 minutos (en este paso se observó el pellet). El sobrenadante se eliminó por completo. El pellet se lavó agregando 500 μ L de etanol 70% frío (-20°C) vorteando por 1 minuto. Nuevamente se centrifugó a 12000g (aproximadamente 11000 rpm) por 10 minutos. El sobrenadante se eliminó por completo y se dejó secar el pellet a 37°C por 5 minutos máximo. El pellet se resuspendió en 50 μ L de agua ultrapura (en su defecto buffer TE 0.1X).

2.3. Protocolo de amplificación por PCR y análisis de fragmentos de microsatélites en *O. kisutch*

Como marcadores moleculares se ensayó inicialmente un listado de 12 loci microsatélites especie específicos y heterólogos. En la Tabla 63 se expone el listado de 12 loci microsatélites ensayados inicialmente para la especie *O. kisutch*, por el Laboratorio de Genética y Acuicultura de la Universidad de Concepción (Acuigen <http://www.udec.cl/~acuigen/>).

Posterior a la extracción de ADN de las muestras en estudio, se preparó cada muestra a 20ng de ADN genómico por microlitro de dilución. Posterior a la dilución de las muestras se procedió a la amplificación mediante PCR de los loci microsatélites listados en la Tabla 63, donde se indica las secuencias de los partidores de cada microsatélite con su respectivo fluoróforo que permite el análisis de fragmentos en un secuenciador. Se indica además el autor de estos microsatélites para más detalles de los mismos, el programa de amplificación utilizado en el termociclador (Tabla 64) y la Taq polimerasa requerida para obtener óptimos resultados.

Tabla 63: Características de microsatélites ensayados para la evaluación de ejemplares escapados desde centros del salmónido *O. kisutch*. Microsatélites en cursiva se utilizaron finalmente para la evaluación de individuos escapados.

Microsatélite	Secuencia Partidores	Referencia	Rango de tamaño (pb)	Programa de Amplificación/Taq	Motivo de repetición
Ots101	F 5'-(PET)ACGTCTGACTTCAATGATGTTT-3' R 5'-TATTAATTATCCTCCAACCCAG-3'	Small et al. (1998)	92-231	Oki3/Invitrogen	
OMM1121	F 5'-(PET)CTGCCAATGTTTGTCTATG-3' R 5'-GGCTGTCAATCTGTCTTCTAC-3'	Rexroad III et al. (2001)	187-198	Touchdown2/Biotools	(TAGA) ₇ <i>Tetranucleótido</i>
OMM1128	F5'-(6-FAM)CCACATCCTAGAACCGTTGA-3' R 5'-CAATACACAGCACCAACAACC-3'	Rexroad III et al. (2001)	199-319	Oki3/Invitrogen	(TCTA) ₁₄ <i>Tetranucleótido</i>
Ots-3	F 5'-CACACTCTTTCAGGAG-3' R 5'-CTTCCATTGTGATTCT-3'	Banks et al. (1999)	124-161	Oki1/Invitrogen	(TC) ₁₈ <i>Dinucleótido</i>
Ots-2	F5'-ACACCTCACACTTAGA-3' R 5'-CAGTGTGAAGGATATTTAAA-3'	Banks et al. (1999)	133-147	Oki2/Invitrogen	(CA) ₁₈ <i>Dinucleótido</i>
Ogo2	F 5'-(PET)ACATCGCACACCATAAGCAT-3' R 5'-GTTTCTTCGACTGTTTCCTCTGTGTTGAG-3'	Olsen et al. (1998)	234-264	Touchdown1/Biotools	(GA) ₂₄ <i>Dinucleótido</i>
Ocl8	F 5'-(NED)TAGTGTTCCGTGTTTCGCCTG-3' R 5'-CACCTTCCATCTCTCATTCCAC-3'	Condrey and Bentzen (1998)	97-135	Touchdown1/Biotools	(GT) ₄₆ <i>Dinucleótido</i>
Oneμ2	F 5'-(VIC)GGTGCCAAGGTTTCAGTTTATGTT-3' R 5'-CAGGAATTTACAGGACCCAGGTT-3'	Scribner et al. (1996)	185-275	Oki4/Invitrogen	(GA) ₁₁ <i>Dinucleótido</i>
Oneμ13	F 5'-(NED)TCATACCCCATGCCTCTTCTGTT-3' R 5'-GATGAGTGAAAGAGAGGGAGCGA-3'	Scribner et al. (1996)	194-230	Oki4/Invitrogen	
Oki1	F 5'-(VIC)AGGATGGCAGAGCACCCT-3' R 5'-CACCCATAATCAGATATTCAGA-3'	Smith et al. (1998)	90-200	Touchdown2/Biotools	(CTGT) ₁₈ <i>Tetranucleótido</i>
Oneμ19	F 5'-(NED)CTGGAAAGCACAGAGAGAGCCTT-3' R 5'-TCCAACAGTCTAACAGTCTAACCA-3'			Oki4/Biotools	
Ogo1a	F 5'-(6-FAM)GATCTGGGCCTAAGGGAAAC-3' R 5'-ACTAGCGGTTGGAGAACCC-3'	Olsen et al. (1998)	110-154	Touchdown1/Biotools	(GTCT) ₂₆

Tabla 64: Programas de amplificación para los loci microsatélites en estudio en el salmónido *O. kisutch*.

Programa Touchdown 1		Programa Touchdown 2	
step1	95°C-5'	step1	95°C-5'
step2	95°C---30"	step2	95°C---30"
step3	56°C (-1°C by cycle) -- 30"	step3	64°C (-1°C by cycle) -- 30"
step4	72°C---30"	step4	72°C---30"
step 2 to 4, 10 cycles		step 2 to 4, 10 cycles	
step5	95°C---30"	step5	95°C---30"
step6	46°C ---- 30"	step6	54°C ---- 30"
step7	72°C---30"	step7	72°C---30"
step 5 to 6, 20 cycles		step 5 to 6, 20 cycles	
Step 8	72°C---5'	Step 8	72°C---5'

Programa Oki 1	Programa Oki 2	Programa Oki 3	Programa Oki 4
step1 95°C-5'	Step1 95°C-5'	Step1 95°C-5'	Step1 95°C-5'
step2 95°C---30"	step2 95°C---30"	Step2 95°C---30"	Step2 95°C---30"
step3 46°C ----30"	step3 46°C ----30"	Step3 54°C ----30"	Step3 57°C ----30"
step4 72°C---30"	step4 72°C---30"	Step4 72°C---30"	Step4 72°C---30'
step 2 to 4, 31 cycles	step 2 to 4, 34 cycles	step 2 to 4, 35 cycles	step 2 to 4, 35 cycles
Step5 72°C---10'	Step5 72°C---10'	Step5 72°C---10'	step5 72°C---10'

Las condiciones de PCR de cada microsatélite se indican en la Tabla 65 y 66 para un volumen de amplificación final de 10 µL. En todos los ensayos se utilizó controles negativos (reacción con todos los reactivos, menos el ADN, se lleva a un volumen final de PCR de 10 µL con agua de PCR), con el fin de detectar contaminación que pueda distorsionar los resultados. El producto de PCR de cada microsatélite se visualizó un secuenciador por capilar ABI PRISM 3730xl de Applied Biosystems. Para el análisis de los fragmentos amplificados, se mezcló 2ul del producto amplificado por PCR (alelos de los microsatélites) con 10ul de formamida, y 0.2ul del estándar de peso GeneScan™ 500 LIZ®. Posteriormente la mezcla se denaturó incubando a 95°C por 2 minutos. Las muestras denaturadas se cargaron en un secuenciador ABI 3730xl de Applied Biosystems. La carga de las muestras se llevó a cabo en capilares de 50 cm sobre el polímero líquido POP7, con 10 segundos como tiempo de inyección, voltaje de 12V y con un tiempo de corrida de 45 minutos. Una vez finalizada la electroforesis la asignación del tamaño alélico y la determinación de los genotipos de cada individuo se realizó utilizando el software GeneMarker® v1.85 de Softgenetics. Una vez analizados los resultados en términos de

porcentaje de reacciones PCR positivas y porcentaje de individuos genotipados finalmente se utilizaron siete microsatélites para la evaluación final de los ejemplares en estudio. Los microsatélites utilizados son; OMM1121, OMM1128, Ogo2, Ocl8, Oneμ2, Oki1 y Ogo1a.

Tabla 65: Condiciones de amplificación para los microsatélites Ogo2, Ogo1a, Ocl8, OMM1121 y Oki1, en el salmónido *O. kisutch*.

Reactivos	Concentración final
Agua PCR	enrasar a 10ul
Tampón PCR	1x
MgCl ₂	1,5mM
dNTPs	0,2mM
P1	0,2uM
P2	0,2uM
Taq polimerasa	0,5 unidades
ADN genómico	10ng/ul

Tabla 66: Condiciones de amplificación para los microsatélites OMM1128 y Oneμ2, en el salmónido *O. kisutch*.

Reactivos	Concentración final
Agua PCR	enrasar a 10ul
Tampón PCR	1x
MgCl ₂	1,5mM
dNTPs	0,2mM
P1	0,2uM
P2	0,2uM
Taq polimerasa	0,2 unidades
ADN genómico	10ng/ul

2.4. Análisis estadísticos de las muestras

Una vez obtenido el genotipo multilocus de las muestras en estudio, éstas se deben comparar con la información genética basada en los mismo marcadores moleculares aquí desarrollados provenientes de los centros de cultivo de potencial origen de los ejemplares escapados en evaluación. En este punto es indispensable contar con información referente a las frecuencias alélicas de los microsatélites aquí expuestos para *O. kisutch* de los centros de cultivo referenciales.

2.5. Errores de genotipado y frecuencia de alelos nulos

Se estimó la presencia de errores de genotipado como, bandas sombra o amplificación preferencial de alelos cortos, además de la presencia de alelos nulos en cada uno de los centros y las muestras temporales recolectadas en el Fiordo Aysén. Esto fue realizado en el programa MICROCHECKER (van Oosterhout et al. 2004). El porcentaje de alelos nulos fue determinado utilizando el algoritmo de Brookfield (Brookfield 1996).

Parámetros de variabilidad genética

Se determinó las frecuencias alélicas, el índice de Fijación (F) y número de alelos (Na) utilizando el programa GENALEX v6 (Peakall & Smouse 2006). Los niveles de heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He) y valor de probabilidad del test exacto del equilibrio de Hardy & Weinberg fueron realizados en el programa ARLEQUIN 3.0 (Excoffier et al. 2005).

2.6. Estructuración poblacional

Para determinar la presencia de estructuración poblacional se utilizó dos aproximaciones: 1) Por un lado, se calculó el índice Rst (índice específico para datos microsatélites) de Slatkin (1995) por pares de localidades y por locus, esto utilizando el programa ARLEQUIN 3.0. La finalidad de estimar Rst fue determinar entre cuales Centros se encuentran diferencias, en cambio para el Rst por locus fue determinar cual o cuales de los loci utilizados es o son los que muestran mayor diferencias entre las muestras analizadas. 2) Por otro lado, se realizó un análisis de cluster mediante una aproximación bayesiana implementado en el programa STRUCTURE v2.2 (Pritchard et al. 2000; Falush et al. 2003). Este programa fue utilizado para inferir estructura poblacional usando datos genotípicos sin información *a priori* (sin importar la localidad de los Centros o muestras del Fiordo Aysén), el algoritmo utilizado identifica diferentes grupos (desde un punto de vista genético) asignando individuos a las poblaciones en estudio. El programa asume un modelo en el cual hay K poblaciones (K es desconocido) caracterizados por un set de datos de frecuencias alélicas en cada locus. Los individuos son asignados probabilísticamente a poblaciones o conjuntamente a dos o más poblaciones si sus genotipos indican que están mezclados. Para este análisis se utilizó un modelo de mezcla con frecuencias alélicas correlacionadas (mejor configuración según autores del software (Falush et al. 2003)). Se probó 2–10 cluster (K) con ocho réplicas cada uno. Se determinó el número de cluster presentes en las muestras en estudio mediante un valor de likelihood (LnP (D)). Se aplicó el Test de Bonferroni para comparaciones múltiples cuando fue necesario (Rice 1989).

2.6.1. Test de asignación de muestras del Fiordo Aysén “Escapados”

Se realizó un test de auto-asignación de las muestras de cada centro, con la finalidad de determinar si las muestras recolectadas en cada centro correspondieran principalmente al centro muestreado. Por otra parte, para asignar cada muestra recolectada en el Fiordo Aysén a su origen más probable “Centro” se realizó un test de asignación individual. Para la auto-asignación de las muestras de los centros y asignación directa de las muestras del Fiordo Aysén a los centros fue tomado un criterio de asignación igual o mayor que el 99%.

Por otro lado, se realizó un test de exclusión poblacional, este fue realizado utilizando un umbral de probabilidad de exclusión del 0,01 y 0,05, el criterio de computación fue basado en método bayesiano (Rannala & Mountain 1997). Todos los test, auto-asignación, asignación directa y exclusión fueron realizados en el programa GENECLASS v. 1.0.02 (Piry et al. 2004).

3. RESULTADOS

3.1. Errores de genotipado, frecuencia de alelos nulos y parámetros de variabilidad genética

No se observó errores de genotipado como amplificación preferencial de alelos cortos, ni bandas sombra, no obstante algunos loci podrían presentar alelos nulos debido a un déficit de heterocigotos (Tabla 67). Los seis loci utilizados presentaron alta variabilidad, medida como N_a , H_e y H_o (Tabla 67). La heterocigocidad esperada promedio para cada Centro y muestra del Fiordo Aysén oscilo entre 0.573 (Fiordo 2) a 0.792 (Fiordo 3) y el número de alelos promedio fluctuó entre 6.1 – 10 en el Fiordo 2 y Fiordo 3, respectivamente.

El índice F_{is} mostró que hay déficit y exceso de heterocigotos dependiendo del locus (Tabla 67). Al evaluar el equilibrio de H&W se encontró que algunos loci tanto en Centros, como en muestras del Fiordo Aysén presentaron loci con valores significativos ($p < 0.05$): Centro 1/°1 (One μ 2 y Ocl8), Centro 2/°2 (One μ 2 y OMM1121), Centro 1/°4 (Ogo2), Centro 3/°4 (OMM1128, One μ 2 y OMM1121), Centro 4/°4 (OMM1128, One μ 2, Ocl8 y OMM1121), Fiordo 2 (One μ 2 y Ocl8) y Fiordo 3 (Todos los loci) (Tabla 67).

3.2. Estructuración poblacional R_{st} por pares y por locus

El índice R_{st} mostró diferencias significativas entre los diferentes centros en estudio, basado en valores estadísticamente significativos ($p < 0.05$). Para las muestras provenientes del Fiordo Aysén (Fiordo 2) el índice R_{st} en el Fiordo 2 muestra diferencias significativas con todos los Centros excepto con Fiordo 3, lo cual es congruente tomando en cuenta que han sido muestreados en diferentes temporadas Tabla 68. El resultado del índice R_{st} por locus indica que todos los loci presentan diferencias significativas (Tabla 67), mostrando valores elevados para índices R_{st} (e.g. locus Ogo2, $R_{st} = 0.697$).

3.3. Estructuración poblacional basada en clúster

El análisis de clúster realizado por centros mostró que el número más probable de poblaciones (K) es cinco, con un valor promedio de likelihood ($\ln P(D)$) igual a -4318,6. Para las muestras de los Fiordos el análisis de clúster encontró que el número más probable de poblaciones (K) es cuatro, con un valor promedio de likelihood ($\ln P(D)$) igual a -1016,5. Tomando en cuenta todas las muestras (cinco centros, Fiordo 2 y Fiordo 3), análisis de clúster encontró que el número más probable de poblaciones (K) es siete, con un valor promedio de likelihood ($\ln P(D)$) igual a -5402,8 (Figura 56).

3.4. Test de auto-asignación de centros y asignación muestras del fiordo a los centros

Los individuos de cada centro fueron auto-asignados entre un 76 - 88 %, con un criterio de asignación correcta de 99% (Tabla 69). Estos resultados indican sobre el 75% de los individuos recolectados en cada centro corresponden a su propio centro. De las muestras obtenidas en el Fiordo Aysén (Fiordo 2 y Fiordo 3) 28 fueron asignadas directamente a los centros, siendo el centro 3 al que se le asignó mayor número de muestras con un 21% (Tabla 70). Utilizando valores umbrales de 0,01 y 0,05 de probabilidad de exclusión los encontramos un número de individuos excluidos entre los rangos 34-56 y 38-69, respectivamente (Tabla 70). El número de individuos que no fueron asignados a algún centro de referencia fueron 29 utilizando un umbral de probabilidad de 0,01 y 33 utilizando un umbral de probabilidad de 0,05. No es posible excluir la posibilidad que algunos de las muestras de *O. kisutch* recolectadas en el Fiordo Aysén puedan pertenecer a un centro no muestreado. La exclusión se basa en una simulación con 10000 individuos por población, y una probabilidad de que las muestras escapadas están por debajo de un umbral de 1 y 5% de probabilidad de haber surgido a partir de los centros de referencia. NA: No Aplicable

Tabla 67: Parámetros de variabilidad genética de *Oncorhynchus kisutch* para siete loci microsatélites en las localidades bajo estudio (N: número de muestras utilizadas en el análisis; Na: número de alelos; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada; H&W: valor de probabilidad para el test de equilibrio de Hardy & Weinberg.).

Localidad	Parámetro	LOCUS						
		OMM1128	Oneμ2	Ogo2	Ogo1a	Ocl8	OMM1121	Oki1
Centro 1/°1	N	18	35	35	28	31	24	32
	Na	6	19	12	2	13	4	9
	Alelo Nulos	-0.042	0.073	-0.043	0.032	0.008	-0.129	0.038
	Ho	0.833	0.742	0.885	0.428	0.87	0.875	0.656
	He	0.782	0.893	0.819	0.485	0.901	0.674	0.733
	H&W	0.367	0.001	0.925	0.69	0.02	0.281	0.404
	Fis	-0.095	0.157	-0.097	0.102	0.018	-0.325	0.091
Centro 2/2°	N	46	47	46	46	46	44	46
	Na	4	19	10	2	12	3	6
	Alelo Nulos	0.024	0.021	0.027	-0.03	-0.021	-0.118	-0.022
	Ho	0.391	0.893	0.717	0.543	0.847	0.636	0.739
	He	0.431	0.907	0.774	0.503	0.818	0.468	0.708
	H&W	0.431	0	0.07	0.767	0.417	0.018	0.965
	Fis	0.083	0.005	0.064	-0.092	-0.047	-0.373	-0.055
Centro 1/°4	N	30	30	33	44	48	44	44

	Na	9	15	3	2	9	3	7
	Alelos Nulos	-0.018	0.049	0.118	0.044	0.011	-0.086	0.038
	Ho	0.766	0.8	0.272	0.431	0.75	0.5	0.659
	He	0.746	0.909	0.449	0.503	0.778	0.384	0.734
	H&W	0.91	0.079	0.028	0.376	0.821	0.075	0.241
	Fis	-0.045	0.106	0.384	0.132	0.027	-0.314	0.092
Centro 3/4	N	32	31	28	40	40	40	40
	Na	11	13	3	2	8	4	6
	Alelos Nulos	0.013	-0.054	-0.036	0.03	-0.072	-0.259	-0.066
	Ho	0.781	0.967	0.357	0.45	0.925	0.825	0.75
	He	0.818	0.879	0.314	0.501	0.805	0.519	0.649
	H&W	0.001	0	1	0.539	0.159	0	0.768
	Fis	0.03	-0.118	-0.155	0.091	-0.164	-0.607	-0.17
Centro 4/4	N	50	50	49	53	60	61	60
	Na	15	15	6	2	12	6	6
	Alelo Nulos	0.011	0.045	-0.047	-0.033	0	-0.209	-0.052
	Ho	0.84	0.72	0.714	0.452	0.833	0.95	0.616
	He	0.87	0.809	0.642	0.409	0.84	0.618	0.542
	H&W	0	0.001	0.735	0.513	0.029	0	0.254
	Fis	0.025	0.102	-0.123	-0.116	0	-0.55	-0.146
Fiordo 2	N	20	16	10	34	44	38	29
	Na	10	14	2	2	7	4	4
	Alelo Nulos	-0.004	-0.007	0.054	-0.038	-0.178	-0.091	-0.032
	Ho	0.85	0.812	0.3	0.529	0.909	0.578	0.413
	He	0.862	0.824	0.394	0.479	0.626	0.452	0.377
	H&W	0.481	0.004	0.482	0.716	0	0.279	0.632
	Fis	-0.01	-0.017	0.2	-0.121	-0.467	-0.297	-0.115
Fiordo 3	N	24	19	23	32	32	32	30
	Na	12	16	9	7	8	6	12
	Alelo Nulos	0.14	0.139	0.244	0.063	-0.085	0.074	0.187
	Ho	0.583	0.631	0.347	0.656	0.812	0.625	0.4
	He	0.859	0.92	0.801	0.78	0.68	0.766	0.735

	H&W	0	0	0	0	0	0	0
	Fis	0.307	0.295	0.557	0.146	-0.214	0.172	0.447
	Rst	0.506	0.161	0.697	0.191	0.176	0.02	0.088
	Valor-p	0	0	0	0	0	0.019	0
	Fst	0.203	0.058	0.25	0.034	0.109	0.054	0.06
	Valor-p	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 68: Valores de estadístico Rst (bajo la diagonal), para microsatélites de *Oncorhynchus kisutch* en las localidades en estudio, y valor de probabilidad asociada (sobre la diagonal) con bootstrap de 10.000.

	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Centro 4	Centro 5	Fiordo 2	Fiordo 3
Centro 1	-	<0.0001	<0.0001	0.004	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Centro 2	0.106	-	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Centro 3	0.550	0.492	-	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.247
Centro 4	0.611	0.576	0.058	-	0.753	<0.0001	<0.0001
Centro 5	0.575	0.576	0.013	0.148	-	<0.0001	<0.0001
Fiordo 2	0.328	0.320	0.116	0.198	-0.010	-	0.999
Fiordo 3	0.269	0.363	0.017	0.175	0.199	-0.232	-

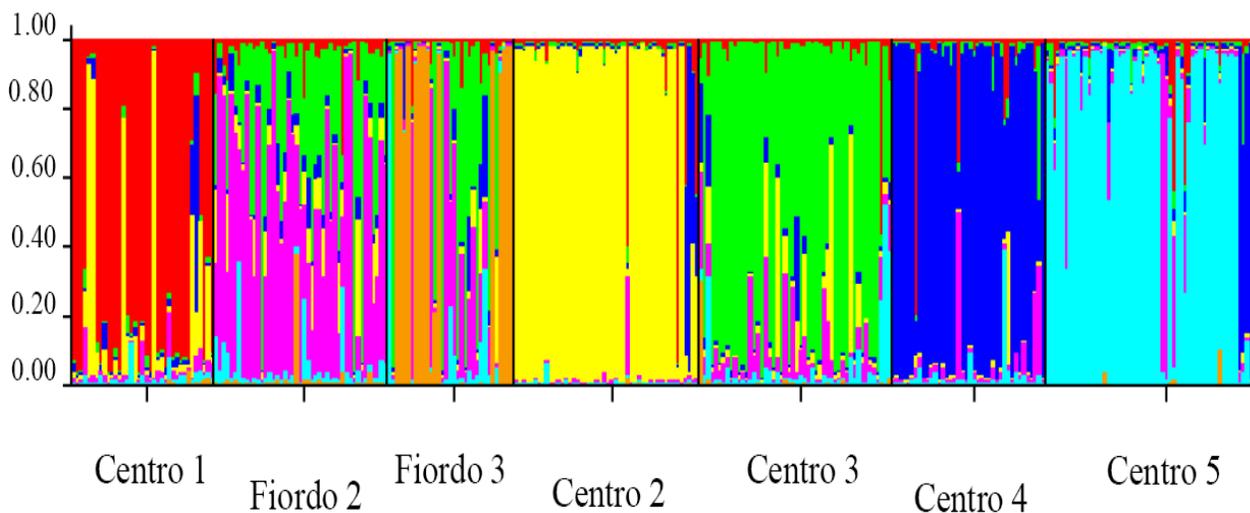


Figura 56: Representación gráfica de la estructura genética para las 314 muestras de *O. kisutch*, provenientes de Centros de cultivo y del Fiordo Aysén. Cada individuo está representado por una barra vertical separada en segmentos de K colores con un largo proporcional a la membresía estimada de cada clúster inferido. El número de poblaciones (K) más probable es siete.

Tabla 69: Resultado de pruebas de auto-asignación utilizando el método de asignación directa Bayesiano en GeneClass 1.0 (Cornuet et al. 1999), (números en negrita representan el número de peces correctamente asignados a una muestra de Centro; los otros números representan individuos asignados a otros centros, tomando como criterio de asignación desde 99%.

	CENTRO1	CENTRO2	CENTRO3	CENTRO4	CENTRO5
CENTRO1	30	1	-	-	-
CENTRO2	-	42	-	-	-
CENTRO3	-	-	38	-	-
CENTRO4	-	1	-	31	6
CENTRO5	-	-	-	-	50
Número total de muestras	37	48	50	40	61
% Asignación correcta	0.81	0.88	0.76	0.78	0.82

Tabla 70: Resultados de asignación directa y exclusión de 78 individuos recolectados desde el Fiordo Aysén (“escapados”) a los cinco centros de referencia provenientes del mismo fiordo.

Muestras	Test	Centros					Rechazado de todos los centros
		Centro1	Centro2	Centro3	Centro4	Centro5	
Fiordos	Asignación directa a Centro	2 (0.03)	0	16 (0.21)	1 (0.01)	9 (0.12)	NA
Fiordos	Exclusión de Centro						
	0.01	54	55	34	53	56	29
	0.05	56	55	38	58	69	33

4. DISCUSIÓN

El objetivo principal de la implementación de la técnica era comprobar la factibilidad de aplicar esta metodología en el Fiordo Aysén con la caracterización de salmónidos capturados, específicamente con la especie *O. kisutch*. Este es uno de los pocos trabajos que empíricamente han utilizado marcadores genéticos para asignar salmónidos escapados desde cultivos (Skaala et al. 2004; Glover et al. 2008), y el primero para la especie *O. kisutch*.

4.1. Variabilidad genética y estructuración poblacional inter-centros

La variabilidad genética encontrada en los centros y en las muestras del fiordo medida como heterocigosidad promedio concuerda con lo encontrado por De Woody & Avise (2000), donde para peces anadromos es de 0.68, y para los centros y fiordos 0.677. Por otro lado, tomando en cuenta el número de alelos por locus *O. kisutch* (7.98) muestra un menor número de alelos por locus que lo esperado para especies anadromos (10.8). En relación a la diferenciación poblacional, tanto el índice R_{st} como el análisis de cluster detectaron que los centros se diferencian genéticamente. Esta diferencia se avala por el test de auto-asignación, el cual entregó valores altos de asignación correcta por sobre el 76%. Es de esperarse esta diferencia genética entre centros de cultivo sea debido a que el manejo de las empresas acuícolas en general es mantener plantales reproductores que tengan características de interés. Por otro lado, trabajar con un pequeño número de parentales como reproductores implica que fuerzas evolutivas como la deriva génica disminuya la variabilidad genética y se fijen variantes alélicas propias de cada centro. Información necesaria como conocer con que cepa se trabaja es importante para entender las diferencias observadas, ya que hasta este momento solo podemos asumir que las diferentes empresas acuícolas presentes en el Fiordo Aysén utilizan diferentes cepas o que sus plantales son estables en el tiempo. La diferencia genética encontrada entre centros se corrobora con estudios previos en otros salmónidos como *Salmo salar* e.g. (Skaala et al. 2004), *Salmo trutta* e.g. (Was & Wenne 2002). Las muestras de los provenientes del Fiordo Aysén muestran diferencias genéticas, basado en los análisis de cluster se dilucidan cuatro agrupaciones genéticas. Estos resultados podrían deberse a que en el Fiordo Aysén se encontraría la presencia de individuos provenientes de centros de cultivo no muestreados, siendo estos salmones escapados o que alguna(s) de las agrupaciones genéticas corresponda a poblaciones de individuos asilvestrados. Esto es corroborado con el test de exclusión, donde 29 – 33 de los 78 individuos son excluidos de los centros.

4.1.1. Asignación/exclusión de ejemplares escapados

Una combinación de análisis de asignación directa y exclusión basada en probabilidad indica que de 78 ejemplares escapados, 28 pueden ser directamente asignados a los centros referencia con un 99% de asignación correcta. De estos 28 ejemplares escapados asignados, 16 tendrían como origen el centro 3, sobrepasando en cerca de un 50% la asignación de los otros centros en estudio. A pesar de esta diferencia sólo el centro 2 estaría libre de escapes a la luz de esta evidencia. Los 29 ejemplares excluidos desde los centros en estudio provendrían desde otros centros no muestreados o desde poblaciones asilvestrados presentes en el Fiordo Aysén. Para comprobar estas hipótesis otros centros desde el Fiordo Aysén deben ser caracterizados genéticamente para la misma temporada, en conjunto con poblaciones asilvestradas. Los altos valores de auto-asignación desde los centros referenciales, que varían entre un 76% y un 88%, en conjunto con valores de R_{st} tal altos como 0.697, demuestran la excelente oportunidad para asignar genéticamente ejemplares escapados con un alto porcentaje. Estos resultados son consistentes mientras los centros en estudio mantengan su individualidad genética y seamos capaces de diferenciarlos. Una vez que las empresas y por ende sus centros cambien sus planteles reproductores nuevos perfiles genéticos deben ser construidos para el análisis de asignación/exclusión desde ejemplares escapados.

4.1.2. Marcadores moleculares: una herramienta de gestión ambiental

Los resultados de este estudio ofrecen una herramienta de fiscalización para trazar el origen de ejemplares escapados de salmón coho en el Fiordo Aysén, y así asignar responsabilidades según lo descrito en la ley 18.889 (artículo 87) y n°19.300. Con esta herramienta entidades como Sernapesca y/o SAG podrían muestrear en aduana las ovas de salmónes coho importadas para la producción y cosecha, contando desde el ingreso de las ovas al país con una perfil genético que le permitiría asignar ejemplares escapados a la empresa que importó las ovas.

En forma paralela las empresas contarían con una herramienta que les permita desentenderse de responsabilidades al excluir genéticamente ejemplares escapados desde sus centros, así como una vez ocurrido el escape certificar que ha recapturado al menos el 10% de sus escapados, tal como lo establece la ley 18.892 en el artículo 118. Para esto basta con que cada empresa, y cada uno de sus centros realice un muestreo al momento del desove de sus reproductores estableciendo así un perfil genético a priori de su producción sin la necesidad de sacrificar o estresar a los ejemplares adultos.

Las pruebas de asignación/exclusión han sido implementadas en muchas aplicaciones para una variedad de especies de salmonídeos e.g (Hansen et al. 2000; Koljonen et al. 2005; Hansen et al. 2006). En el ámbito del manejo pesquero (Beacham et al. 2004; Elfstrom et al. 2007), en casos de fraudes (Primmer et al. 2000), y para la asignación de ejemplares escapados desde centros de cultivos en el caso del Salmón del Atlántico (Glover et al. 2008); Skaala et al., 2006), y salmón chinook (Astorga et al. 2008). El presente estudio demuestra la factibilidad de utilizar marcadores genéticos en pruebas de asignación en el caso del salmón coho en el Fiordo Aysén. Los altos valores de auto-asignación por centro y los valores de asignación/exclusión lo respaldan. Sin embargo para contar con una mayor

precisión en la designación del origen de los ejemplares escapados en estudios futuros, es necesario contar con marcadores moleculares específicos de cepas y/líneas de producción, y un perfil genético de los ejemplares que componen los centros de cultivo. Para la construcción del perfil genético, los marcadores microsatélites aquí ensayados y el número de muestras analizadas es suficiente para caracterizar adecuadamente los centros de cultivo. Esta nueva herramienta para la identificación del origen de salmones escapados puede aumentar o disminuir la veracidad de los reportes de escapes por parte de los cultivadores, además ayudar a entender y conocer las causas y potenciales soluciones, para finalmente reducir los escapes.

CONCLUSIONES GENERALES

- El estudio constató la presencia de cinco especies de salmones en el Fiordo Aysén, siendo éstas salmón coho, trucha café, salmón chinook, trucha arcoiris y salmón del Atlántico, en orden decreciente de abundancia.
- Al menos dos de las especies de salmónidos encontradas en el Fiordo Aysén, salmón chinook y trucha café, presentan poblaciones asilvestradas claramente establecidas en esta cuenca.
- La evidencia obtenida del análisis morfológico y de otolitos indicó que la totalidad de los individuos de salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico capturados en el fiordo corresponderían a ejemplares escapados de centros de cultivo. Sin embargo, mientras que no existe evidencia alguna de asilvestramiento de salmón del Atlántico en la cuenca, no es posible descartar algún nivel de asilvestramiento de salmón coho y trucha arcoiris.
- Los rendimientos de pesca de salmónidos de vida libre disminuyeron de forma constante durante el periodo de estudio, salvo para trucha arcoiris que presentó un aumento relativo en verano de 2010. Esta situación podría estar vinculada a la fuerte reducción de la actividad acuícola en el fiordo, durante el período de estudio.
- Los peces nativos más abundantes en los muestreos directos efectuados en el fiordo fueron robalo (*Eleginops maclovinus*) y pejerrey (*Odontesthes regia*), mientras que las de mayor consumo por parte de los salmónidos de vida libre correspondieron a la familia Nototheniidae y a sardina austral.
- La clase Crustácea constituyó el segundo grupo de presas más importante para los salmónidos de vida libre, destacándose crustáceos pelágicos (*Munida gregaria*, *Euphausia* sp.) y decápodos bentónicos (*Hemigrapsus crenulatus*).
- El desempeño trófico promedio (proporción realizada de la tasa máxima de ingestión) estimado para los salmónidos de vida libre presentes en el Fiordo Aysén mostró niveles relativamente bajos en peces escapados (0,49-0,53) y notablemente mayores en peces asilvestrados (0,69-0,77).
- El consumo promedio individual de las distintas especies de salmónidos se encontró en un rango entre 12,8 y 121,4 g·día⁻¹. Los valores más bajos correspondieron a salmón del Atlántico y los mayores a adultos de salmón chinook.
- Las estimaciones de salmónidos escapados presentes en el fiordo alcanzaron abundancias promedio de 434.400, 252.500 y 81.400 individuos para salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico, respectivamente.
- Los promedios estimados de consumo de alimento estimado para los salmónidos escapados alcanzaron valores de 8.400, 1.840 y 300 ton·año⁻¹, para salmón coho, trucha arcoiris y salmón del Atlántico, respectivamente. Los valores agregados por año para estas tres especies alcanzaron valores mínimos y máximos de 813 ton en 2003 y de 13.960 ton en 2008.

- La generación de valores indicativos del consumo total de presas por parte de las especies asilvestradas, por su parte, requeriría de estimaciones, aún no disponibles, sobre su abundancia.
- El presente estudio mostró la factibilidad de utilizar marcadores genéticos para asignar origen de salmónidos escapados en el Fiordo Aysén, con altos valores de auto-asignación por centro (75%).
- Los perfiles genéticos construidos para tres centros participantes permitieron asignar 28 de 78 ejemplares de salmón coho de vida libre capturados en el Fiordo Aysén ($\alpha=0.01$). Los 50 individuos restantes podrían provenir de centros no muestreados o, alternativamente, corresponder a individuos asilvestrados (erróneamente clasificados como escapados).
- Mayores tasas de asignación requerirían de un programa de vigilancia que permitiera generar perfiles genéticos anuales de todos los centros de cultivo y/o de todas las cepas presentes en el fiordo. Los marcadores microsatélites aquí ensayados y el número de muestras analizadas mostraron ser suficientes para la construcción de estos perfiles.
- Mientras que las estimaciones de consumo individual de peces nativos ofrecen una base para evaluar las consecuencias ecológicas, económicas y sociales del escape de salmónidos en el sur de Chile, el desarrollo de los objetivos 4 y 5 ofrece un método viable para identificar el origen de los peces escapados y poder vincular efectos y responsabilidades en futuras regulaciones y medidas de manejo del sector.

REFERENCIAS

- Aguilar A. & Garza J.C. 2008. Isolation of 15 single nucleotide polymorphisms from coastal steelhead, *Oncorhynchus mykiss* (Salmonidae). *Molecular Ecology Resources* 8: 659-662.
- Aljanabi S.M. & Martinez I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* 25: 4692-4693.
- Alverson D.L. & Carney M.J. 1975. A graphic review of the growth and decay of population cohorts. *J. Cons. Int. Explor. Mer* 36: 133-143.
- Andreassen R., Hagen-Larsen H., Sánchez-Ramos I., Lunner S. & Høyheim. B. 2008. STR and bi-allelic polymorphisms in Atlantic salmon: Tools for tracing large scale escapees from salmon farms. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 1: 586-588.
- Aranishi F. 2006. Single fish egg DNA extraction for PCR amplification. *Conservation Genetics* 7: 153-156.

- Astorga M.P., Valenzuela C., Arismendi I. & Iriarte J.L. 2008. Naturalized chinook salmon in the northern Chilean Patagonia: Do they originate from salmon farming? *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 43(3): 669-674.
- Aursand M., Mabon F. & Martin G.J. 2000. Characterization of farmed and wild salmon (*Salmo salar*) by a combined use of compositional and isotopic analyses. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77(6): 659–666.
- Aursand M., Standal I.B., Praël A., McEvoy L., Irvine J. & Axelson D.E. 2009. ¹³C NMR pattern recognition techniques for the classification of atlantic salmon (*Salmo salar* L.) according to their wild, farmed, and geographical origin. *Journal of agricultural and food chemistry* 57(9): 3444–3451.
- Banks M.A. & Eichert W. 2000. WHICHRUN (Version 3.2) a computer program for population assignment of individuals based on multilocus genotype data. *J. of Heredity* 91: 87-89.
- Banks M.A., Blouin M.S., Baldwin B.A., Rashbrook V.K., Fitzgerald H.A., Blankenship S.M. & Hedgecock D. 1999. Isolation and inheritance of novel microsatellites in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Journal of Heredity* 90(2): 281-288.
- Banks M.A., Eichert W. & Olsen J.B. 2003. Which genetic loci have greater population assignment power? *Bioinformatics* 19(11): 1436–1438.
- Barnett-Johnson R., Grimes C.B., Royer C.F. & Donohoe C.J. 2007. Identifying the contribution of wild and hatchery Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) to the ocean fishery using otolith microstructure as natural tags. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 64(12): 1683-1692.
- Barría C. 2009. Evaluación preliminar del impacto trófico potencial de salmón coho, *Oncorhynchus kisutch*, en el Fiordo Aysén. Licenciature Thesis. Valdivia: Universidad Austral de Chile. 89p.
- Basulto S. 2003. El largo viaje de los salmones. Una crónica olvidada., Santiago, Chile: Maval.
- Beacham T.D. et al. 2004. Stock identification of Fraser River sockeye salmon using microsatellites and major histocompatibility complex variation. *Transactions of the American Fisheries Society* 133(5): 1117–1137.
- Beamish R.J. & McFarlane G.A. 1983. The forgotten requirement for age validation in fisheries biology. *Transactions of the American Fisheries Society* 112(6): 735–743.
- Beauchamp D.A., Stewart D.J. & Thomas G.L. 1989. Corroboration of a bioenergetic model for sockeye salmon. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 118: 597-607.

- Becker L. 2004. Determinación del origen del salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) del Río Santa Cruz, aplicando técnicas de ADN mitocondrial. Puerto Madryn, Argentina: Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco.
- Beckmann J.S. & Weber J.L. 1992. Survey of human and rat microsatellites. *Genomics* 12: 627-631.
- Billard R. & Jensen J.O.T. 1996. Gamete removal, fertilization and incubation. In W. Pennell & B. A. Barton, eds. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science V. 29: Principles of Salmonid Culture*. Amsterdam: Elsevier, pp. 291- 363.
- Blann C.A. & Healey M.C. 2006. Effects of species, culture history, size and residency on relative competitive ability of salmonids. *Journal of Fish Biology* 69(2): 535-552.
- Blohm D. et al. 2008. Assessment of tools for identifying the genetic origin of fish and monitoring their occurrence in the wild. Genimpact-Evaluation of genetic impact of aquaculture activities on native populations. A european network. Final scientific report.
- Bluth A., Espinoza L., Guzmán C., Hidalgo C., Martínez S., Mellado M., Sanchez V. & Tang M. 2003. *La acuicultura en Chile*, Santiago, Chile: TechnoPress.
- Borrell Y., Vázquez E., Prado J.A.S. & Blanco G. 2002. Esclarecimiento de relaciones de parentesco en *Salmo salar* L., 1758 utilizando loci microsatélites. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 18: 211-220.
- Brett J.R. 1971a. Energetic responses of salmon to temperature. A study of some thermal relations in the physiology and freshwater ecology of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Am. Zool.* 11(1): 99-113.
- Brett J.R. 1971b. Satiation time, appetite, and maximum food intake of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *J. Fish. Res. Board Can.* 28(3): 409-415.
- Brodeur R.D., Daly E.A., Schabetsberger R.A. & Mier K.L. 2007. Interannual and interdecadal variability in juvenile coho salmon *Oncorhynchus kisutch* diets in relation to environmental changes in the northern California Current. *Fisheries Oceanography* 16(5): 395-408.
- Brookfield J.F.Y. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology* 5(3): 453-455.
- Burnham K.P. & Anderson D.R. 2002. *Model selection and multimodel inference: A practical-theoretic approach* 2nd ed., Amsterdam, The Netherlands: Springer-Verlag.

- Burwen D.L., Fleischman S.J. & Miller J.D. 2010. Accuracy and precision of salmon length estimates taken from DIDSON sonar images. *Transactions of the American Fisheries Society* 139(5): 1306–1314.
- Cadrin S., Friedland K.D. & Waldman J. 2005. Stock identification methods: an overview. In S. Cadrin, K. D. Friedland, & J. Waldman, eds. *Stock identification methods*. San Diego, California: Elsevier Academic Press, pp. 3-6.
- Campana S.E. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *J. of Fish Biology* 59: 197-242.
- Campuzano F.J., Marin V.H., Tironi A. & Chambell-Leitao P. 2008. Ecological conceptual model for a southern Chilean fjord: the Aysen Fjord case study. In R. Neves, J. W. Baretta, & M. Mateus, eds. *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*. Lisboa, Portugal: IST Press, pp. 563-576.
- Carlander K.D. 1969. *Handbook of freshwater. Fishery. Biology* 3rd ed., Des Moines, Iowa: The Iowa State University press. 750 p.
- Cayún D. 2010. Caracterización y estimación de abundancia de adultos retornantes de salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*, Walbum, 1972), en el Río Jaramillo, cuenca del Río Baker, Región de Aysén. Licenciature Thesis. Valdivia: Universidad Austral de Chile. 87p.
- Cercueil A., Bellemain E. & Manel S. 2002. PARENTE: Computer program for parentage analysis. *The Journal of Heredity* 93(6): 458-459.
- Chakraborty A., Sakai M. & Iwatsuki Y. 2006. Museum fish specimens and molecular taxonomy: A comparative study on DNA extraction protocols and preservation techniques. *Journal of Applied Ichthyology* 22: 160-166.
- Chang W.Y.B. 1982. A statistical method for evaluating the reproducibility of age determination. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 39(8): 1208–1210.
- Chistiakov D.A., Hellemans B. & Volckaert F.A.M. 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* 255: 1–29.
- Ciancio J.E., Pascual M.A. & Beauchamp D.A. 2007. Energy density of Patagonian aquatic organisms and empirical predictions based on water content. *Transactions of the American Fisheries Society* 136: 1415–1422.
- Ciancio J.E., Pascual M.A., Lancelotti J., Rossi C.M.R. & Botto F. 2005. Natural colonization and establishment of a chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, population in the Santa Cruz River, an Atlantic basin of Patagonia. *Environmental Biol of Fishes* 74(2): 219-227.

- Clifford S.L., McGinnity P. & Ferguson A. 1998. Genetic changes in an Atlantic salmon population resulting from escaped juvenile farm salmon. *J of Fish Biology* 52(1): 118–127.
- Condrey M.J. & Bentzen P. 1998. Characterization of coastal cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki clarki*) microsatellites and their conservation in other salmonids. *Mol Ecol* 7(6): 787–789.
- Corander J., Waldmann P., Marttinen P. & Sillanpää M.J. 2004. BAPS2: enhanced possibilities for the analysis of genetic population structure. *Bioinformatics* 20: 2363-2369.
- Cornuet J.M., Piry S., Luikart G., Estoup A. & Solignac M. 1999. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153: 1989-2000.
- Correa C. & Gross M. 2008. Chinook salmon invade southern South America. *Biological Invasions* 10(5): 615-639.
- Le Cren E.D. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *The Journal of Animal Ecology* 20(2): 201–219.
- Crow J. & Kimura M. 1970. *An introduction to population genetics theory* 1st ed., New York: Harper and Row, Publishers.
- Cummings S.A. & Thorgaard G.H. 1994. Extraction of DNA from fish blood and sperm. *Biotechniques* 17(3): 426-430.
- Davidson F.A. & Hutchinson S.J. 1938. *The geographic distribution and environmental limitations of the Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*)*, Department of Commerce (USA).
- Deiner K., Garza J.C., Coey R. & Girman D.J. 2007. Population structure and genetic diversity of trout (*Oncorhynchus mykiss*) above and below natural and man-made barriers in the Russian River, California. *Conservation Genetics* 8: 437-454.
- Donaldson L.R. & Joyner. T. 1983. The salmonid fishes as a natural livestock. *Scientific American* 249: 50-58.
- Eby L.A., Roach W.J., Crowder L.B. & Stanford J.A. 2006. Effects of stocking-up freshwater food webs. *Trends in Ecology & Evolution* 21(10): 576-584.
- Eldridge W.H., Bacigalupi M.D., Adelman I.R., Miller L.M. & Kapuscinski A.R. 2002. Determination of relative survival of two stocked walleye populations and resident natural-origin fish by microsatellite DNA parentage assignment. *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences* 59(2): 282–290.

- Elfstrom C.M., Smith C.T. & Seeb L.W. 2007. Thirty-eight single nucleotide polymorphism markers for high-throughput genotyping of chum salmon. *Molecular Ecology Notes* 7(6): 1211–1215.
- Ellegren H. 2000. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends Genetic* 16: 551-558.
- Elliott J.M. 1976. The energetics of Feeding, Metabolism and Growth of Brown Trout (*Salmo trutta* L.) in Relation to Body Weight, water temperature and ration size. *The Journal of Animal Ecology* 45(3): 923-948.
- Estoup A. & Angers B. 1998. Microsatellites and minisatellites for molecular ecology: Theoretical and empirical considerations. In G. Carvalho, ed. *Advances in Molecular Ecology*. Amsterdam: IOS Press, pp. 55-86.
- Estoup A., Gharbi K., Cristobal M.S., Chevalet C., Haffray P. & Guyomard R. 1998. Parentage assignment using microsatellites in turbot (*Scophthalmus maximus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hatchery populations. *Can J of Fish Aquatic Sciences* 55: 715-725.
- Excoffier L., Laval G. & Schneider S. 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics online* 1: 47.
- FAO 1982a. Actas del Simposio sobre acuicultura en América Latina, Montevideo, Uruguay: FAO, Fisheries Department.
- FAO 1982b. Informe de viaje de estudio sobre acuicultura en: Argentina, Bolivia, Chile, Paraguay y Uruguay, 12 de noviembre al 20 de diciembre de 1982, FAO, Fisheries Department.
- Falush D., Stephens M. & Pritchard J.K. 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes* 7: 574-578.
- Falush D., Stephens M. & Pritchard J.K. 2003. Inference of population structure: extensions to linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1567-1587.
- Ferreira M. & Grattapaglia D. 1989. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético, Brasilia, Brasil: EMBRAPA, Centro de Recursos Genéticos y Biotecnología. 221 p.
- Fisher J.P. & Pearcy W.G. 2005. Seasonal changes in growth of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) off Oregon and Washington and concurrent changes in the spacing of scale circuli. *Fish. Bull.* 103: 34-51.
- Fiske P., Lund R.A. & Hansen L.P. 2006. Relationships between the frequency of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in wild salmon populations and fish farming activity in Norway, 1989-2004. In pp. 1182-1189. Available at: <Go to ISI>://000239917100003.

- Fiske P., Lund R.A. & Hansen L.P. 2005. Identifying fish farm escapees. In *Stock Identification Methods; Applications in Fishery Science*. pp. 659–680.
- Ford M.J., Teel D., Doornik D.M.V., Kuligowski D. & Lawson P.W. 2004. Genetic population structure of central Oregon Coast coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Conservation Genetics* 5: 797-812.
- Forster J. 2002. Farming salmon: an example of aquaculture for the mass market. *Review in Fisheries Science* 10(3-4): 577-591.
- Friedland K.D., Reddin D.G., Shimizu N., Haas R.E. & Youngson A.F. 1998. Strontium:calcium ratios in Atlantic salmon (*Salmo salar*) otoliths and observations on growth and maturation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55(5): 1158-1168.
- Fundación Chile 1990. El libro del salmón, 91 p. Available at: <http://www.fundacionchile.cl>.
- Gallardo J. 2007. Caracterización de la colonización de *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum; 1972) en el Río Cobarde, XI Región de Aysén. Licenciature Thesis. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- García Moreno F. 2005. Salmones de Chile: El negocio de comerse el mar. Análisis de efectos sociales y ambientales de la producción de salmón en Chile bajo la perspectiva de soberanía alimentaria. Santiago de Chile: Veterinarios sin Frontera. Colección Soberanía Alimentaria.
- García de León F.J., Cannonne M., Quillet E., Bonhomme F. & Chatain B. 1998. The application of microsatellite markers to breeding programmes in the sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 159: 303-316.
- Gilbey J., Verspoor E., McLay A. & Houlihan D. 2004. A microsatellite linkage map for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Animal Genetics* 35: 98-105.
- Gislason H., Daan N., Rice J.C. & Pope J.G. 2010. Size, growth, temperature and the natural mortality of marine fish. *Fish and Fisheries* 11(2): 149–158.
- Glover K.A. 2008. Genetic characterisation of farmed rainbow trout in Norway: intraand inter-strain variation reveals potential for identification of escapees. *BMC Genetics* 9: 87.
- Glover K.A. & Skaala Ø. 2009. Fish farm escapees: Identification with DNA. *Marine Research News* 3.
- Glover K.A., Hansen M.M. & Skaala R. 2009. Identifying the source of farmed escaped Atlantic salmon (*Salmo salar*): Bayesian clustering analysis increases accuracy of assignment. *Aquaculture* 290(1-2): 37–46.

- Glover K.A., Skilbrei O.T. & Skaala Ø. 2008. Genetic assignment identifies farm of origin for Atlantic salmon *Salmo salar* escapees in a Norwegian fjord. ICES Journal of Marine Science 65: 1-9.
- Gross R., Lulla P. & Paaver T. 2007. Genetic variability and differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) strains in northern and Eastern Europe. Aquaculture 272: S139–S146.
- Hansen M.M., Bekkevold D., Jensen L.F., MENSBERG K.L.D. & Nielsen E.E. 2006. Genetic restoration of a stocked brown trout *Salmo trutta* population using microsatellite DNA analysis of historical and contemporary samples. J of Applied Ecology 43(4): 669–679.
- Hansen M.M., Ruzzante D.E., Nielsen E.E. & Mensberg K.D. 2000. Microsatellite and mitochondrial DNA polymorphism reveals life-history dependent interbreeding between hatchery and wild brown trout (*Salmo trutta* L.). Molecular Ecology 9(5): 583–594.
- Hartman K.J. 1993. Striped bass, bluefish, and weakfish in the Chesapeake Bay: Energetics, trophic linkages, and bioenergetics model applications. Univ. MD.
- Haugland M., Holst J.C., Holm M. & Hansen L.P. 2006. Feeding of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolts in the Northeast Atlantic. ICES J of Marine Science 63(8): 1488-1500.
- Hoenig 1983. Empirical use of longevity data to estimate mortality rates. Fishery Bulletin 82: 898-902.
- Holmes J.A., Cronkite G.M.W., Enzenhofer H.J. & Mulligan T.J. 2006. Accuracy and precision of fish-count data from a “dual-frequency identification sonar” (DIDSON) imaging system. ICES J. Mar. Sci. 63(3): 543-555.
- Houston R.D., Haley C.S., Hamilton A., Guy D.R., Tinch A.E., Taggart J.B., McAndrew B.J. & Bishop S.C. 2008. Major quantitative trait loci affect resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Genetics 178: 1109-1115.
- Hyslop E.J. 1980. Stomach contents analysis-a review of methods and their application. J. Fish Biol. 17: 441-429.
- De Innocentiis S., Miggiano E., Ungaro A., Livi S., Sola L. & Crosetti D. 2005. Geographical origin of individual breeders from gilthead sea bream (*Sparus auratus*) hatchery broodstocks inferred by microsatellite profiles. Aquaculture 247: 227- 232.
- Jacobsen J.A. & Hansen L.P. 2001. Feeding habits of wild and escaped farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in the Northeast Atlantic. Ices Journal of Marine Science 58(4): 916-933.

- Jones A.G. & Avise. J.C. 1997. Microsatellite analysis of maternity and the mating system in the Gulf pipefish *Syngnathus scovelli*, a species with male pregnancy and sex-role reversal. *Marine Biology* 6: 203-213.
- Kimura D.K. & Chikuni S. 1987. Mixtures of empirical distributions: An interactive application of the age-length key. *Biometrics* 43(1): 23-35.
- Kimura D.K. & Dorn M.W. 2006. Parameterizing probabilities for estimating age-composition distributions for mixture models. *Fish. Bull.* 104: 303-305.
- King T.L., Eackles M.S. & Letcher B.H. 2005. Microsatellite DNA markers for the study of Atlantic salmon (*Salmo salar*) kinship, population structure, and mixed-fishery analyses. *Molecular Ecology Notes* 5: 130-132.
- Koljonen M.L., Pella J.J. & Masuda M. 2005. Classical individual assignments versus mixture modeling to estimate stock proportions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) catches from DNA microsatellite data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62(9): 2143–2158.
- Kornfield I. & Parker A. 1997. Molecular systematics of a rapidly evolving species flock. The mbuna of Lake Malawi and the search for phylogenetic signal. In T. Kocher & C. Stephen, eds. *Molecular Systematics of Fishes*. California, USA.: Academic Press, p. 314.
- Kuligowski D.R. & Winans G.A. 2002. Inorganic pyrophosphatase: A new polymorphic allozyme locus in Pacific salmon. *Biochemical Genetics* 40: 379-385.
- Littel R.C., Milliken G.A., Stroup W.W. & Wolfinger R.D. 1996. SAS system for mixed models, Cary, N.C.: Sas Institute Inc. 455 p.
- Livia L., Antonella P., Hovirag L., Mauro N. & Panara F. 2006. A nondestructive, rapid, reliable and inexpensive method to sample, store and extract high-quality DNA from fish body mucus and buccal cells. *Molecular Ecology Notes* 6: 257-260.
- Lopera-Barrero N.M., Povh J.A., Ribeiro R.P., Gomes P.C., Jacometo C.B. & daSilva-Lopes T. 2008. Comparison of DNA extraction protocols of fish fin and larvae samples: modified salt (NaCl) extraction. *Cien. Inv. Agr.* 35(1): 65-74.
- Lopez G. 2007. Estimación de edad y crecimiento mediante análisis de escamas en poblaciones de trucha café (*Salmo trutta fario*) y trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en tres ríos de la XI Región de Aysén. Licenciature Thesis. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Lund R.A., Midtlyng P.J. & Hansen L.P. 1997. Post-vaccination intra-abdominal adhesions as a marker to identify Atlantic salmon, *Salmo salar* L., escaped from commercial fish farms. *Aquaculture* 154(1): 27–37.

- Lura H. & Økland F. 1994. Content of synthetic astaxanthin in escaped farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., ascending Norwegian rivers. *Fisheries Management and Ecology* 1(3): 205–216.
- Maceina M.J., Boxrucker J., Buckmeier D.L., Gangl R.S., Lucchesi D.O., Isermann D.A., Jackson J.R. & Martinez P.J. 2007. Current status and review of freshwater fish aging procedures used by state and provincial fisheries agencies with recommendations for future directions. *Fisheries* 32(7): 329–340.
- Madenjian C.P., O'Connor D.V., Chernyak S.M., Rediske R.R. & O'Keefe J.P. 2004. Evaluation of a chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) bioenergetics model. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 61(4): 627-635.
- Margalef R. 1958. Information theory in ecology, *General Systems*. 36-71 p.
- Martinez I., Standal I.B., Axelson D.E., Finstad B. & Aursand M. 2009. Identification of the farm origin of salmon by fatty acid and HR 13C NMR profiling. *Food Chemistry* 116(3): 766–773.
- McNicol R.E. & MacLellan S.E. 2010. Accuracy of using scales to age mixed-stock chinook salmon of hatchery origin. *Transactions of the American Fisheries Society* 139(3): 727–734.
- Megdal P.A., Craft N.A. & Handelman G.J. 2009. A simplified method to distinguish farmed (*Salmo salar*) from wild salmon: fatty acid ratios versus astaxanthin chiral isomers. *Lipids* 44(6): 569–576.
- Metzgar D., Bytof J. & Wills C. 2000. Selection against frameshift mutations limits microstallite expansion in coding DNA. *Genome Research*. 10: 72-80.
- Miggiano E., De Innocentiis S., Ungaro A., Sola L. & Crosetti D. 2005. AFLP and microsatellites as genetic tags to identify cultured gilthead seabream escapees: data from a simulated floating cage breaking event. *Aquaculture International Springer Netherlands* 13(1-2): 137-146.
- Millar R.B. & Holst R. 1997. Estimation of gillnet and hook selectivity using log-linear models. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil* 54(3): 471.
- Mjølnørød I.B., Refseth U.H., Karlsen E., Balstad T., Jakobsen A.S. & Hindar K. 1997. Genetic differences between two wild and farmed populations of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) revealed by three classes of genetic markers. *Hereditas* 127: 239-248.
- Moen T., Hoyheim B., Munck H. & Gomez-Raya L. 2004. A linkage map of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reveals an uncommonly large difference in recombination rate between the sexes. *Animal Genetics* 35: 81-92.

- Montoya R., Gómez P., González M., Henríquez M. & Candia A. 1996. Amplificación de genes por PCR y su aplicación al estudio de la biodiversidad. Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción, Chile 67: 43-51.
- Mullis K.B. 1990. The unusual origin of the Polymerase Chain Reaction. Scientific American April: 36-43.
- Murray C.B. 1994. A Method for Preparing Chinook Salmon Otoliths for Age Determination, and Evidence of Its Validity. Transactions of the American Fisheries Society 123(3): 358-367.
- Méndez R. & Munita C. 1989. La salmonicultura en Chile, Santiago, Chile: Fundación Chile.
- Naish K.A. & Park L.K. 2002. Linkage relationships for 35 new microsatellite loci in chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. Animal Genetics 33: 312-327.
- Naylor R. et al. 2005. Fugitive salmon: Assessing the risks of escaped fish from net-pen aquaculture. Bioscience 55(5): 427-437.
- Nielsen E.E., Hansen M.M. & Loeschcke V. 1996. Genetic structure of European populations of *Salmo salar* L. (Atlantic salmon) inferred from mitochondrial DNA. Heredity 77: 351-358.
- Niklitschek E.J. & Secor D.H. 2009. Dissolved oxygen, temperature and salinity effects on the ecophysiology and survival of juvenile Atlantic sturgeon in estuarine waters: II. Model development and testing. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 381: S161-S172.
- Niklitschek E.J. & Aedo E. 2002. Estudio del ciclo reproductivo de las principales especies objetivo de la pesca deportiva en XI Región. Informe Final FIP 2000-25, Coyhaique, Chile: Universidad Austral de Chile.
- Norris A.T., Bradley D.G. & Cunningham E.P. 1999. Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) revealed by three classes of genetic markers. Aquaculture 180: 247-264.
- Norris A.T., Bradley D.G. & Cunningham E.P. 2000. Parentage and relatedness determination in farmed atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers. Aquaculture 182: 73-83.
- Olsen J.B., Bentzen P. & Seeb J.E. 1998. Characterization of seven microsatellite loci derived from pink salmon. Molecular Ecology 7(8): 1087-1089.
- van Oosterhout C., Hutchinson W.F., WILLS D.P.M. & Shipley P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes 4(3): 535-538.

- Ostberg C.O. & Rodriguez R.J. 2002. Novel molecular markers differentiate *Oncorhynchus mykiss* (rainbow trout and steelhead) and the *O. clarki* (*cutthroat trout*) subspecies. *Molecular Ecology Notes* 2: 197-202.
- O'Connell M. & Wriarth. J. 1997. Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 7: 331-363.
- O'Reilly P., J.W.Carr, F. G. Whoriskey & Verspoor E. 2006. Detection of European ancestry in escaped farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in the Magaguadavic River and Chamcook Stream, New Brunswick, Canada. *ICES J of Marine Science* 63: 1256-1262.
- O'Ryan R., Niklitschek M., Niklitschek E., Ulloa A. & Gligo N. 2006. Trade liberalization, rural poverty and the environment: A case study of forest and salmon sectors in Chile, Santiago, Chile: Universidad de Chile/Universidad Austral de Chile.
- Paetkau D., Calvert W., Stirling I. & Strobeck C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4: 347-354.
- Paetkau D., Slade R., Burden M. & Estoup A. 2004. Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology* 13: 55-65.
- Pamilo P. & Nei M. 1988. Relationships between gene trees and species trees. *Mol. Biol. Evol.* 5: 568 - 583.
- Pascual M. & Ciancio J. 2007. Introduced anadromous salmonids in Patagonia: risks, uses, and a conservation paradox. In *Ecological and Genetic Implications of Aquaculture Activities*. Dordrecht, The Netherlands: Springer, pp. 333-353.
- Paterson S., Piertney D., Gilbey J. & Verspoor E. 2004. Characterization and PCR multiplexing of novel highly variable tetranucleotide Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) microsatellites. *Molecular Ecology Notes* 4: 160-162.
- Pauly D. 1980. On the interrelationships between natural mortality, growth parameters, and mean environmental temperature in 175 fish stocks. *J. Const. int Explor. Mer* 39(2): 175-192.
- Peakall R. & Smouse P.E. 2006. GENALEX6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6: 288-295.
- Pequeño G. & Olivera F. 2007. Peces litorales de los canales de Aysén, capturados durante los dos cruceros del Proyecto CIMAR 9 Fiordos, en el año 2003. *Ciencia y tecnología del Mar* 30(1): 106.

- Perez L.A., Winkler F.M., Diaz N.F., Carcamo C. & Silva N. 2001. Genetic variability in four hatchery strains of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), in Chile. *Aquaculture Research* 32(1): 41-46.
- Petit R.J., El Mousadik A. & Pons O. 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12(4): 844–855.
- Pinkas L., Oliphant M.S. & Iverson I.L.K. 1971. Foods habits of albacore, bluefin tuna, and bonito in California waters. *Fish. Bull. Calif.* 152: 1-105.
- Piry S., Alapetite A., Cornuet J.-M., Paetkau D., Baudouin L. & Estoup A. 2004. GeneClass2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *Journal of Heredity* 95: 536-539.
- Powell W., Morgante M. & Andre C. 1995. Hypervariable microsatellites provide a general source of polymorphic DNA markers for the chloroplast genomes. *Current Biology* 5: 1023-1029.
- Primmer C.R., Koskinen M.T. & Piironen J. 2000. The one that did not get away: individual assignment using microsatellite data detects a case of fishing competition fraud. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267(1453): 1699.
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Pruett C.L., Saillant E., Renshaw M.A., Patton J.C., REXROAD III C.E. & Gold J.R. 2005. Microsatellite DNA markers for population genetic studies and parentage assignment in cobia, *Rachycentron canadum*. *Molecular Ecology Notes* 5(1): 84–86.
- Pérez-Enríquez R., Takagi M. & Taniguchi N. 1999. Genetic variability and pedigree tracing of a hatchery-reared stock of red sea bream (*Pagrus major*) used for stock enhancement, based on microsatellite DNA markers. *Aquaculture* 173: 413-423.
- Rademacher K. 2007. Peces litorales de Aysen y sus relaciones ictiogeográficas. Licenciature Thesis. Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias. 113p.
- Rand P.S., Stewart D.J., Seelback P.W., Jones M.L. & Wedge L.R. 1993. Modeling steelhead population energetics in Lakes Michigan and Ontario. *Trans. Am. Fish. Soc.* 122: 977-1001.
- Rannala B. & Mountain J.L. 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 9197-9201.

- Rexroad III C.E., Coleman R.L., Martin A.M., Hershberger W.K. & Killefer J. 2001. Thirty-five polymorphic microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Genetics* 32(5): 317–319.
- Rice W.E. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-224.
- Ricker W.E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations, Ottawa, Canadá.
- Riva-Rossi C., Pascual M.A., Babaluk J.A., Garcia-Asorey M. & Haldenk N.M. 2007. Intra-population variation in anadromy and reproductive life span in rainbow trout introduced in the Santa Cruz River, Argentina. *Journal of Fish Biology* 70(6): 1780-1797.
- Rodriguez F., Rexroad C.E. & Palti Y. 2003. Characterization of twenty-four microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Ecology Notes* 3: 619-622.
- SERNAPESCA 2006. Anuario estadístico de pesca, Santiago, Chile: Servicio Nacional de Pesca, Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción.
- SERNAPESCA 2010. Anuario estadístico de pesca 2009. Available at: <http://www.sernapesca.cl> [Accessed November 8, 2010].
- SalmónChile 2006. Informe económico salmonicultura 2006. Informe a la Asociación de la Industria del Salmón de Chile A.G. SalmónChile, Santiago, Chile: Jorge Quiroz & Consultores Asociados.
- Schneider S., Roessli D. & Excoffier L. 2000. Arlequin (Version 2.000). A software for population genetics data analysis, Geneva: University of Geneva. Switzerland.
- Scribner K.T., Gust J.R. & Fields R.L. 1996. Isolation and characterization of novel salmon microsatellite loci: cross-species amplification and population genetic applications. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53(4): 833–841.
- Secor D.H., Dean J.M. & Laban E.H. 1995. Manual for otolith removal and preparation for microstructural examination, Belle W. Baruch Institute for Marine Biology and Coastal Research.
- Secor D.H., Dean J.M. & Laban E.H. 1992. Otolith removal and preparation for microstructural examination D. K. Stevenson & S. E. Campana, eds., *Can. Spec. Publ. Fish.Aquat. Sci.* 117.
- Segura D. 2003. Efectos del manejo pesquero sobre el crecimiento y la abundancia de *Salmo trutta* fario (Linnaeus, 1758) en el Río Ñireguao. Licenciature. Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile.

- Shannon C.E. & Weaver W. 1949. The mathematical theory of communication, University of Illinois Press.
- Simon K.S. & Townsend C. 2003. Impacts of freshwater invaders at different levels of ecological organisation, with emphasis on salmonids and ecosystem consequences. *Freshwater Biology* 48: 982-994.
- Skaala Ø. 2007. Breakthrough for DNA investigations of escaped salmon. *Marine Research News* 19.
- Skaala Ø., Hbyheimb B., Glovera K. & Dahlea G. 2004. Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): allelic diversity and identification of individuals. *Aquaculture* 240: 131-143.
- Skaala Ø., Taggart J.B. & Gunnes K. 2005. Genetic differences between five major domesticated strains of Atlantic salmon and wild salmon. *Journal of Fish Biology* 67(Supplement A): 118-128.
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457-462.
- Small M.P., Beacham T.D., Withler R.E. & Nelson R.J. 1998. Discriminating coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) populations within the Fraser River, British Columbia, using microsatellite DNA markers. *Molecular Ecology* 7(2): 141–155.
- Smith C.T., Park L., Vandoornik D., Seeb L.W. & Seeb J.E. 2006. Characterization of 19 single nucleotide polymorphism markers for coho salmon. *Molecular Ecology Notes* 6: 715-720.
- Smith C.T., Koop B.F. & Nelson R.J. 1998. Isolation and characterization of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) microsatellites and their use in other salmonids. *Molecular Ecology* 7(11): 1613–1621.
- Smith I.P., Booker D.J. & Wells N.C. 2009. Bioenergetic modelling of the marine phase of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Marine Environmental Research* 67(4-5): 246-258. Available at: [Accessed January 9, 2011].
- Soto D., Arismendi I., Gonzalez J., Sanzana J., Jara F., Jara C., Guzman E. & Lara A. 2006. Southern Chile, trout and salmon country: invasion patterns and threats for native species. *Revista Chilena de Historia Natural* 79(1): 97-117.
- Soto D., Arismendi I., Di Prinzio C. & Jara F. 2007. Establishment of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in Pacific basins of southern South America and its potential ecosystem implications. *Revista Chilena de Historia Natural* 80(1): 81-98.

- Soto D., Jara F. & Moreno C. 2001. Escaped salmon in the inner seas, Southern Chile: facing ecological and social conflicts. *Ecological Applications* 11(6): 1750-1762.
- Soto D., Jara F., Guerrero A., Godoy C., Avila X., Moreno C., Niklitschek E.J., Molinet C. & Aedo J.E. 1997. Evaluación de salmónidos de vida libre existentes en las aguas interiores de las regiones X y XI. Informe Final Proyecto FIP 95-31, Puerto Montt, Chile: Universidad Austral de Chile.
- Stewart D.J. & Ibarra M. 1991. Predation and production by salmonid fishes in Lake Michigan 1978-88. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 909-922.
- Subsecretaría de Pesca 2007. Base de datos digital y archivos de resoluciones que autorizan la importación y cultivo de especies salmonídeas en Chile, Valparaíso, Chile: Subsecretaría de Pesca, Chile.
- Sweeting R.M., Beamish R.J. & Neville C.M. 2004. Crystalline otoliths in teleosts: Comparisons between hatchery and wild coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in the Strait of Georgia. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 14: 361-369.
- Tautz D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic. Acid Res.* 17: 6463-6471.
- Thomas F. et al. 2008. Determination of origin of Atlantic salmon (*Salmo salar*): the use of multiprobe and multielement isotopic analyses in combination with fatty acid composition to assess wild or farmed origin. *Journal of agricultural and food chemistry* 56(3): 989-997.
- Townsend C.R. 2003. Individual, population, community, and ecosystem consequences of a fish invader in New Zealand streams. *Conservation Biology* 17(1): 38-47.
- Utter F., Hindar K. & Ryman N. 1993. Genetics effects of aquaculture on natural salmonid populations. In K. Heen, R. Monahan, & F. Utter, eds. *Salmon Aquaculture*. Fishing News Book. Oxford, pp. 144-165.
- Vargas M. 1983. Investigación de sobrevivencia de salmón. Pesca exploratoria realizada por buque de investigación "Itzumi" y lancha "Alevin," Coyhaique, Chile: Servicio Nacional de Pesca/Japan International Cooperation Agency.
- Veinott G. & Porter R. 2005. Using otolith microchemistry to distinguish Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr from different natal streams. *Fisheries Research* 71(3): 349-355.
- Vergara M. 2003. La acuicultura en Chile, Santiago, Chile: Ediciones Tecno-Press SA. 335 p.
- Vetter E.F. 1988. Estimation of natural mortality in fish stocks: a review. *Fishery Bulletin* 86(1): 25-43.

- Vigliano P.H., Alonso M.F. & Aquaculture M. 2007. Salmonid introductions in Patagonia: a mixed blessing. In T. Bert, ed. Ecological and genetic implications of aquaculture activities. Dordrecht, Netherland: Springer Netherlands, pp. 315-331.
- Vila I., Zeiss E. & Gibson H. 1978. Prospecciones de sistemas hidrográficos para la introducción del salmón en Chile. *Biología Pesquera* 10: 61-73.
- Walker A.M., Beveridge M.C.M., Crozier W., Maoileidigh N.O. & Milner N. 2006. Monitoring the incidence of escaped farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in rivers and fisheries of the United Kingdom and Ireland: current progress and recommendations for future programmes. *ICES Journal of Marine Science* 63(7): 1201-1210.
- Wang J. 2004. Sibship reconstruction from genetic data with typing errors. *Genetics* 166: 1963-1979.
- Was A. & Wenne R. 2002. Genetic differentiation in hatchery and wild sea trout (*Salmo trutta*) in the Southern Baltic at microsatellite loci. *Aquaculture* 204(3-4): 493-506.
- Wasko A.P., Martins C., Oliveira C. & Foresti F. 2003. Non-destructive genetic sampling in fish. An improved method for DNA extraction from fish fins and scales. *Hereditas* 138: 161-165.
- Webb J.H., Youngson A.F., Thompson C.E., Hay D.W., Donaghy M.J. & McLaren I.S. 1993. Spawning of escaped farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in western and northern Scottish rivers: egg deposition by females. *Aquaculture Research* 24(5): 663-670.
- Weir B. 1990. Sampling strategies for distances between DNA sequences. *Biometrics* 46: 551 - 560.
- Welcome R.L. 1988. International introductions of inland aquatic species. *FAO Fisheries Technical Paper*. 294: 328.
- Wells B.K., Friedland K.D. & Clarke L.M. 2003. Increment patterns in otoliths and scales from mature Atlantic salmon *Salmo salar*. *Marine Ecology Progress Series* 262: 293-298.
- Williamson K.S., Cordes J.F. & Bernie M. 2002. Characterization of microsatellite loci in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and cross-species amplification in other salmonids. *Molecular Ecology Notes* 2: 17-19.
- Winberg G.G. 1971. *Methods for the estimation of production of aquatic animals*, London and New York: Academic Press Inc.
- Winberg G.G. 1956. *Rate of metabolism and food requirements of fishes.*, Minsk: Belorussian State University, Minsk. (Transl. by Fish. Res. Board. Can. Transl. Ser. No. 194, 1960).

- Withler R.E., Rundle T. & Beacham T.D. 2007. Genetic identification of wild and domesticated strains of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in southern British Columbia. *Aquaculture* 272: 161-171.
- De Woody J. & Avise J. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology* 56: 461-473.
- Yue G.H. & Orban L. 2001. Rapid isolation of DNA from fresh and preserved fish scales for polymerase chain reaction. *Marine Biotechnology* 3: 199-204.
- Zama A. 1987. Biological observations on sea-run brown trout in Fiordo Aysen, southern Chile (Pisces: Salmonidae). *Revista de Biología Marina* 23: 193-213.
- Zama A. & Cárdenas E. 1984a. Descriptive catalogue of marine and freshwater fishes from the Aysén Region, Southern Chile, with zoogeographical notes on the fish fauna, Coyhaique, Chile: Servicio Nacional de Pesca/Japan International Cooperation Agency.
- Zama A. & Cárdenas E. 1984b. Oceanographic observations in Aysén Fiord and Moraleda Channel, Southern Chile, Puerto Aysén, Chile: Servicio Nacional de Pesca/Japan International Cooperation Agency.
- Zama A. & Cárdenas E. 1984c. Predation of fishes on young salmon released into Ensenada Baja, Puerto Chacabuco (XI Region, Chile), Coyhaique, Chile: Servicio Nacional de Pesca/Japan International Cooperation Agency.
- Zama A. & Cárdenas E. 1984d. Recapture of juvenil chum salmon (*Oncorhynchus keta*) released into Aysen Fjord, southern Chile, with notes of their conditions factor, feeding index and migration rate, Coyhaique, Chile: Servicio Nacional de Pesca/Japan International Cooperation Agency.
- Zama A. & Cárdenas E. 1982. Seasonal ocurrence of fishes collected in Ensenada Baja, southern Chile, with notes of stomach contents, sex ratio and maturity, Coyhaique, Chile: Servicio Nacional de Pesca/Japan International Cooperation Agency.
- Zama A. & Cárdenas E. 1983. Some biological observations of wild brown trout (*Salmo trutta*) in the Aysen and Salto Rivers, southern Chile., Coyhaique, Chile: Servicio Nacional de Pesca/Japan International Cooperation Agency.
- Zane L., Bargelloni L. & Patarnello T. 2002. Strategies for microsatellite isolation. A review *Molecular Ecology* 11: 1-16.

Anexo 1: Tabla suplementaria Objetivo 4

Tabla 71: Ejemplos en especies, métodos utilizados, resultados y referencias en la identificación de peces escapados.

Especie	Técnica de identificación Utilizada	Resultado de asignamiento de origen de los salmones	Marcadores estudiados	Referencia
<i>Salmo salar</i>	Cromatografía de gas	Excelente marcador para distinguir entre salmones de cultivo y silvestres ($P= 0.0001$; $n=30$)	Análisis de ácidos grasos. Acido linoleico	Megdal et al. (2009)
Salmonidos	Cromatografía de gas de alta resolución (HR) y ^{13}C RMN, combinada con quimiometria (BBN, SVM, PCA, PNN)	Se identifico peces silvestres por el perfil de ac. graso, relación $n3/n6$ y por el PCA (método quimiométrico. Los mejores métodos para identificar las granjas de cultivo de peces escapados fueron (BBN y GC) y (SVM y $^{13}\text{CRMN}$)	Análisis de Ac. Grasos (relacion $n3/n6$)	Martinez et al. (2009)
<i>Salmo salar</i>	Cromatografía de gas. Espectrometría de masas de relación isotópica y de alta resolución ^2H . SNIF-NMR deuterium.	La combinación de 4 composiciones de ac. Graso, tres fracciones molares de deuterio y la totalidad de $(\text{D}/\text{H})_{\text{tot}}$ relación isotópica de los aceites de pescado, permitió la asignación de un 100% de los grupos de estudio	Composición ácidos grasos de los aceites de pescados extraídos de músculo de peces silvestres y de cultivos (Noruega y Escocia).	Aursand et al. (2000)
<i>Salmo salar</i>	Microsatélites		Loci SSsp 1605; Ssa197; Ssa 202	O'Reilly et al. (2006)
<i>Salmo salar</i>	Microsatélites Análisis estadístico Bayesiano	59% de las muestras fueron correctamente asignadas al lugar de origen.	SsaD486; Ssa14 Ssa289; SsaF43; Ssa202; SSsp1605; SSsp3016; SsOSL85; SSsp2210; Ssa85; Ssa171; SSspG7; SSsp2216; Ssa197; SSsp2201; SsaD157; SsaD144.	Glover et al. (2009)
<i>Sparus aurata</i>	Microsatélites Análisis estadístico Bayesiano	El origen de los reproductores de 2 centros acuícola, provienen en su mayoría desde el mediterráneo y del Atlántico. El 79,8% de los individuos fue asignado a algún pool genéticos.	SaGT1, SaGT26, SaGT31, SaGT32	De Innocentiis et al. (2005)
<i>Salmo salar</i>	Microsatélites Análisis estadístico Bayesiano.	62,5% de salmones recapturados fue asignado correctamente a las muestras de línea base de centros de cultivo. Se deduce que los métodos genéticos de asignamiento del origen de las especies escapadas tienen un alto grado de precisión.	SSsp3016, SSsp2210, SSspG7, Ssa197, Ssa171, Ssa202, SSsp2201, SsaD157, SsaF43, SsaD486, Sp1605, Sp2216, SsaD144, Ssa14, Ssa289	Glover et al. (2008)
<i>Salmo salar</i>	Microsatélites	Test de asignamiento indicaron que salmones cultivados pueden ser identificados con gran precisión (88%). Menos del 4% de los salmones cultivados fueron asignados como silvestres, y menos del 3% de los peces silvestres fueron asignados como cultivados.	Ssa20, Ssa62NVH, Ssa71NVH, Ssa90NVH, Ssa103NVH, Ssa105NVH, SsaF43; Ssa20.19; Ssa13.37; SsOSL85; Ssa197; Ssa28.	Skaala et al. (2004)

Especie	Técnica de identificación Utilizada	Resultado de asignamiento de origen de los salmones	Marcadores estudiados	Referencia
<i>Salmo salar</i>	Análisis funcional discriminante en base a concentración de elementos traza en otolitos, obtenidos por Espectrometría de masas con plasma de Acoplamiento Inductivo mediante Ablación Láser (LA-ICP-MS).	Mediante la matriz de clasificación de jackknifed se pudo estimar la proporción de otolitos correctamente clasificados por lugar (rio) de origen. Estas proporciones fueron de un 100%, 91% y 83%, para tres grupos de peces extraídos de tres ríos distintos. El método puede ser usado para identificar el origen de los peces adultos capturados en el medio marino o en combinación con los datos genéticos y de escala para aumentar el poder discriminatorio de estos sistemas de clasificación e identificación.	Mg, Mn, Sr, y Ba.	Veinott & Porter (2005)
<i>Salmo salar</i>	Análisis de lípidos en músculo mediante Resonancia Magnética Nuclear (¹³ C NMR) en combinación con análisis multivariado de datos (PNN y SVM)	(1)Se discriminó entre salmón de cultivo y silvestre, (2) entre distintos orígenes geográficos, y (3) verificar origen de muestras de mercado. Ambas redes neuronales probabilística (PNN) y máquinas de vector de apoyo (SVM) la discriminación siempre excelente (98,5 y 100,0%, respectivamente) entre salmón silvestre y de cultivo. La discriminación con respecto a procedencia geográfica fue un poco más difícil, con tasas de clasificación correcta desde 82,2 hasta 99,3% SVM by PNN, respectivamente. En el análisis de muestras de mercado, 5 de los peces marcados y comprados como salmón salvaje se clasificaron como el salmón de cultivo (que indica un etiquetado incorrecto), y hubo discrepancias entre la clasificación y declaración de producto en cuanto a la procedencia geográfica.	Los parámetros de RMN experimentales fueron los siguientes: anchura espectral, 200,78 ppm; ángulo de pulso, 30°; tiempo de permanencia, 19,8 μs; tiempo de adquisición, 2,0 s, número de puntos de datos, 101006; reciclar demora, 2,5 s, el número de adquisiciones, 512 (2048).	Aursand et al. (2009)
<i>Salmo salar</i>	Cromatografía líquida para el análisis de composición de esteres metílicos de ácidos grasos (FAMES). Espectrometría de Masa de Relaciones isotópicas (IRMS) para medir proporción de isótopos estables en fracciones lipídicas.	De los ácidos grasos analizados, el Ac. Linoleico (C18:2n-6), fue el mejor marcador para discriminar entre peces de origen silvestre y cultivados. Por su parte, el análisis de isótopos estables, reveló que $\delta^{15}\text{N}_{\text{CHOLINE}}$ y $\delta^{18}\text{O}_{\text{OIL}}$ fueron los parámetros mejor evaluados. La combinación de estos tres parámetros puede ser un método confiable para identificar el origen biológico y geográfico de peces. Sin embargo, factores ambientales pueden afectar la variabilidad de estos parámetros y se necesitan estudios adicionales para definir más precisamente estas influencias	<u>Ac. grasos</u> : myristic acid C14:0 (9.36); palmitic acid C16:0 (11.87); palmitoleic acid C16:1n-7 (12.14); stearic acid C18:0 (15.34); vaccenic acid C18:1n-7 (15.78); oleic acid C18:1n-9 (15.63); linoleic acid C18:2n-6 (16.50); eicosenoic acid C20:1n-9 (21.66); eicosapentaenoic acid (EPA) C20:5n-3 (27.72); brassidic acid C22:1n-11 (32.10); docosapentaenoic acid (DPA) C22:5n-3 (43.57); docosahexaenoic acid (DHA) C22:6n-3 (45.84). <u>Isótopos estables</u> ($\delta^{15}\text{N}_{\text{choline}}$, and	Thomas et al. (2008)

Especie	Técnica de identificación Utilizada	Resultado de asignamiento de origen de los salmones	Marcadores estudiados	Referencia
			$\delta^{18}\text{Ooil}$, $\delta^{13}\text{Coil}$, $\delta^{18}\text{Ooil}$, $\delta^{13}\text{Cglycerol}$, $\delta^{15}\text{Ncholine}$, $\delta^{18}\text{Oglycerol}$, $\delta^{13}\text{Cfatty acids}$, $\delta^{13}\text{Cmuscle}$, $\delta^{15}\text{Nmuscle}$, $\delta^{18}\text{Owater}$.	
<i>Sparus auratus</i>	Microsatélites y AFLP		SaGT1, SaGT26, SaGT31, SaGT32	Miggiano et al. (2005)
<i>Salmo salar</i>	Vacuna trivalente, bacterinas adyuvante aceite (Impección visual en la necropsia).	Adherencias entre los órganos internos y pared intestinal fueron más sensibles y específicos para identificar poblaciones de peces vacunados que pigmentaciones en peritoneo y vísceras. Muestras de peces vacunados después de 3 a 35 meses presentaron sensibilidad de 93-100% y especificidad de 100%. Se recomienda exclusión de peces que posean marcador de adherencia intra-abdominal para estimar el n° de stock de silvestres en selección de reproductores para propagación de poblaciones de salmones en determinados ríos.	Adherencias intra abdominal post vacunación	Lund et al. (1997).
<i>Salmo salar</i>	Minisatelites, RFLP de DNA _{mt}	Muestras colectadas de juveniles provenientes de 3 ríos y ejemplares de un hatchery. Mediante análisis de DNA _{mt} (Ava II-B RFLP) se estableció una frecuencia de 0,58 en juveniles de cultivo, y ausencia en población silvestre. El análisis de minisatélite (Ssa-A45/2/1) estableció una diferencia en la frecuencia de 0,91 para juveniles cultivados y un máximo de 0,41 para muestra de dos ríos. Los peces cultivados mostraron una reducción significativa en la heterocigosidad ($0,281 \pm 0,057$) en los 3 minisatélite examinados en comparación con muestras silvestres ($0,532 \pm 0,063$). La aparición de los genotipos de peces de cultivo y la aparición independiente de los marcadores de ADN _{mt} y minisatélites en varias muestras de peces (parr) de río, indicó que juveniles escapados completaron su ciclo de vida, cria y se cruzaron con peces nativos a su regreso al río.	Alelo E en los loci minisatellite 1 Ssa-A45/2/1, Str-A5, Ssa-A10. Ava II-B RFLP en la región ND1 de DNA _{mt} .	Clifford et al. (1998)
<i>Salmo salar</i>	Microsatélites	Demuestra que los 6 STR son altamente polimórficos y pueden ser utilizado como una herramienta de identificación de salmones domésticos y salvajes, y diferenciar cepas de salmones cultivados	BHMS429, BHMS7-017, BHMS386, BHMS349, BHMS330, Ssa20.	Andreassen et al. (2008)
<i>Salmo salar</i>	Microsatélites	757 de 759 salmones del Atlántico fueron correctamente asignados a 12 familias sólo con la información genética de los padres	Se utilizaron 4 marcadores microsatélites	Smith et al. 2001
<i>Salmo salar</i>	Electroforesis enzimatica	Se determinó la distancia génica entre 5 cepas de salmones	Isoenzimas, ubicada en siguientes	Skaala et al.

Especie	Técnica de identificación Utilizada	Resultado de asignamiento de origen de los salmones	Marcadores estudiados	Referencia
		domésticos y salmones salvajes de los ríos Vosso (1996), Leiden (1995), Namsen (1998), Surna (1998).	locus: AAT-4, ESTD, G3PDH-2, GPI-1,2 IDHP-3, IDDH-2, MDH-2, MDH-3,4, MEP-2, PGM-1, TPI-3	(2005)
<i>Salmo salar</i>	Microsatélites	Estos dos loci estudiados presentan alta variabilidad génica. SSOSL311 y SSOSL417 Que permitieron a 2 parentales asignar al 80% de los peces provenientes de 3 ríos asturianos	SsaF43, Ssa20-19, Ssa13-37, SSOSL1.14, SSOSL311, SSOSL417, Str15	Borrel et al. (2002)
<i>Salmo salar</i>	Cantaxantina	Se identificó progenie de salmones hembra de cultivo, escapadas de jaulas marinas mediante detección y presencia de cantaxantina maternal en juveniles capturados en 16 ríos cercanos al sitio de escape. De 2373 fry, 109 presentaron muestras de cantaxantina con frecuencia media de 5,1% en todos los ríos examinados. Este valor subestima frecuencia real de aparición de la descendencia de salmón escapado: algunos prófugos no contienen cantaxantina ya que peces machos no contribuyen a la carga de este pigmento a su progenie.	Cantaxantina en juveniles	Webb et al 2008
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	Microsatélites	El Objetivo fue identificar la procedencia de los salmones chinook asilvestrados en el río Petrohué, mediante uso de 3 loci microsatélites. Los resultados mostraron mayor variabilidad genética en los individuos asilvestrados que la obtenida en los individuos de cultivo y además se observó divergencia genética entre ellos, lo que permite indicar que las poblaciones de salmones desovantes en el río Petrohué actualmente no son explicadas por posibles escapes desde los grupos de salmones de cultivo, sino más bien corresponderían a poblaciones generadas desde los grupos liberados con fines de repoblamiento antes del comienzo de su cultivo.	(<i>Ots-9, Ots-10, Oneµ-13</i>)	Astorga et al. (2008)
<i>Salmo salar</i>	Análisis astaxantina y parámetros morfológicos	Relación de isómeros de astaxantina en ovas y alevines de salmón del Atlántico, han demostrado ser útiles en identificar reproductores hembras de origen cultivo, este método subestima proporción de peces originados en cultivo. Un análisis discriminante clasifica 96,4 % de peces con contenido de astaxantina conocido con una base de parámetros morfológicos y métricos (erosiones en aletas y cola, peso, tamaño y lesiones en opérculo). Se utilizó esta función discriminante para clasificar el tipo de astaxantina de 1017 salmones de cultivo en 9 ríos (Noruega) durante 1989 y 1991. Proporciones de isómeros de astaxantina en salmón escapado y su relación con la morfología indican que una proporción significativa de peces escapados han pasado más de 1 año en la naturaleza después del escape.	Astaxantina sintética Erosiones en aletas y cola, peso, tamaño, lesiones en operculos.	Lura & Økland (1994)

Especie	Técnica de identificación Utilizada	Resultado de asignamiento de origen de los salmones	Marcadores estudiados	Referencia
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Microsatélites	Asignamiento de 12 cepas de truchas de diferentes lugares de Europa y pisciculturas de EEUU. Peces individuales fueron asignados a cepas de origen con 90% de exactitud. El 0.9 % de variación genética de cepas de especie utilizadas en cultivo, fue representado por diferencias entre lugares de origen. El 13.7% de variaciones genéticas es entre cepas producidas dentro de lugares de origen. El 85,5% de las variaciones genéticas es producida dentro de las cepas.	Ssa197, Ssa85, Ocl8, OMM1019, OMM1020, OMM1036 ,OMM1039, OMM1046, OMM1307, OMM1315	Gross et al. (2007)
<i>Salmo salar</i>	Electroforesis enzimatica, southern blotting. Análisis de ADN fingerprint	Se indica que la quinta generación de salmones atlánticos difiere significativamente de los salmones salvajes.	MEP-2, MDH-3, IDHP-3, AAT-4 ,IDDH-1, IDDH-2, LDH-4, TPI-3, FBALD-3, MDH-1, CK-1 , PGLUA	Mjølnørød et al. (1997)
<i>Rachycentron canadum</i> (Cobia)	Microsatélites	Estos 20 microsatélites pueden ser utilizados en un futuro para estudios de genética poblacional y genética cuantitativa para determinar origen de Cobia si es silvestre o de cultivo.	Rca1B-A10 Rca1B-D09, Rca1B-E02 Rca1B-E08A Rca1B-E08B, Rca 1B-F06 , Rca1B-F07, Rca 1B-G10, Rca1B-H09, Rca 1-A04, Rca 1-A11, Rca 1-B12 , Rca 1-C04, Rca 1-D04, Rca 1-D11, Rca 1-E04, Rca 1-E06, Rca 1-E11, Rca 1-F01, Rca 1-G05	Pruett et al. (2005)
<i>Salmo salar</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Morfología, morfometria	Rayos (marcas) y engrosamiento de aletas después de cicatrización de heridas son comúnmente visualizados en salmones provenientes de centros de cultivo y raramente encontrados en salmones salvajes. Los parámetros formologicos y morfometricos tienen sobre un 80% de exactitud para definir el origen de los salmones	a. Erosión en aletas dorsales, pectorales y colas. b. Diferencia en tamaño opercular c. Defectos en orificio oral y prognatismo mandibular d. Diferencia en centros de pigmentación externa	Fiske et al. (2005)
Walleye (<i>Stizostedion vitreum</i>)	Microsatélites	Se determinó tasa de supervivencias (ts) de alevines sembrados en 2 lugares. Después de un año de la repoblación, se analizaron las ts. Los peces (N=566) fueron asignados a su población de origen mediante comparación de genotipos de 9 loci microsatélites de ADN con genotipos conocidos de parejas de reproductores usados para repoblamiento (asignación de paternidad). Peces no asignados a 1 par de padres se considera producto de la reproducción natural (N = 177), con esto se logro excluirlos para no sesgar la comparación (ts)	9 microsatélites	Eldridge et al. (2002)

Anexo 2: Taller de discusión metodológica Proyecto FIP 2008-30

Desarrollo del Taller

El taller de discusión metodológica, organizado por la Universidad Austral de Chile, se realizó el día 8 de mayo de 2009 en la ciudad de Puerto Aysén, en la sala de la Gobernación Provincial desde las 16:00 a las 18:30 hrs. Contó con la presencia de un representante del Fondo de Investigación Pesquera, representantes de empresas salmoneras y los principales investigadores de este proyecto (Tabla 72). Se observaron tres presentaciones en las que se mostró los distintos objetivos específicos.

Tabla 72: Listado de asistentes al taller de discusión metodológica realizado en Puerto Aysén.

Nombre	Institución
Eduardo Aedo	Universidad Austral de Chile
Mark Buscaglia Solé	Salmón Chile
Billy Ernst	Universidad de Concepción
Sandra Ferrada	Universidad de Concepción
Eduardo Hernández	Universidad Austral de Chile
Julio Lanceloth	CENPAT, CONICET, Argentina
Edwin Niklitschek	Universidad Austral de Chile
Miguel Pascual	CENPAT, CONICET, Argentina
Rubén Pinochet	SUBPESCA - FIP
Jorge Ruiz	Piscicultura GARO
Marcos Soto	Aquachile S.A.
Pamela Toledo	Universidad Austral de Chile

El taller se inició con la presentación del director del proyecto señor Edwin Niklitschek quién dió a conocer los objetivos principales y presentó a los investigadores involucrados en cada etapa de éste; posteriormente se presentó la metodología a aplicar para el desarrollo de los objetivos secundarios, presentaciones realizadas por Edwin Niklitschek, Eduardo Aedo y Sandra Ferrada. Una vez terminadas las presentaciones, se procedió a realizar una conversación y discusión abierta, entre los participantes.

Los representantes de las empresas salmoneras coincidieron en que la mayoría de los centros compran las ovas a las mismas empresas, por lo que realizar un análisis en busca de diferencias genéticas entre centros es de poca utilidad e indican que de realizar un muestreo de tipo genético bastaría con hacerlo sólo en los individuos reproductores. Informan además que en la Región de Aysén la producción máxima es de 2 a 3 batch y que existen empresas especializadas en producir reproductores, en ellos se puede hacer trazabilidad.

La finalidad del proyecto es realizar un listado de productos del análisis genético para generar herramientas útiles a la industria como podría ser la trazabilidad. Se indica que la trazabilidad no podría llegar más allá de 7 generaciones, por el tiempo de residencia de salmónidos en la región. El señor Marcos Soto indica que al menos para el salmón coho que se cultiva en Chile, todos vienen de una misma rama parental

Sr. Jorge Ruiz indica que todos los salmones coho vienen del Lago Llanquihue y éstos a su vez vienen de 3 cepas provenientes de Oregon que eran ejemplares de retorno natural (esto ocurrió a fines de los 80), los ríos de procedencia eran el Kitty Mat y Aqua Oregon. Se liberaron cerca de 75 millones de ovas entre finales de los ochenta y principios de los noventa, es decir debe existir alrededor de ocho a nueve generaciones.

Srta Ferrada opina que es importante muestrear los centros para comparar genéticamente lo que tienen con lo que pueda existir fuera de ellos.

Señor Pinochet indica que si ya se sabe lo que hay en los centros, es mejor concentrar los esfuerzos en los salmones de vida libre. Se debe rediseñar la hipótesis con el fin de saber que es lo que queremos.

Srta Ferrada la técnica genética a aplicar está diseñada para determinar cuál es el origen de los salmónidos

El jefe de proyecto indica que si en los centros no hay diferencia genética no vale la pena gastar esfuerzos en eso. En el Fiordo Aysén hay centros operando con coho pero el origen de ellos es el mismo.

Señor Miguel Pascual pregunta que pasa con los escapados y los asilvestrados, existen coho que no se mezcla?, existe flujo genético?

El señor Marcos Soto acota que hay ríos en la región donde remontan cohos asilvestrados, éstos debieran tener el mismo pull genético que los de cultivo.

El señor Mark Buscaglia indica que sería interesante verificar si existe un flujo desde los salmones de cultivo hacia los silvestres.

El señor Pascual define ciertos tópicos interesantes para investigar como definir la dinámica (de llegar a existir) entre salmones asilvestrados y de cultivo; se debe caracterizar la población en el Fiordo.

El señor Jorge Ruiz menciona que en los desoves y siembras realizadas en el pasado, el salmón chum no se estableció, sólo el coho (existe un informe al respecto), en cambio el chinook viene de un ranching del Río Prat de la Universidad de Washington (ríos Columbia, Green River y Seattle) e indica que a la entrada del Fiordo el ha visto que se alimentan de cangrejos pequeños.

Se preguntan por claves de individuos juveniles y se indica que son difícil de reconocer.

El señor Jorge Ruiz indica además que el coho sube a fines de abril para desovar en Mayo en el Río Claro y remontan hasta el Arroyo Cea, primero llegan los machos y luego las hembras. Donde se observa mayor cantidad es en el Lago Riesco. En el sector de la piscicultura Garo el indica que se pueden observar mas o menos 150 hembras y 70 machos. Él opina que la ova de retorno tiene una mejor sobrevivencia y mejor resistencia que la de cultivo.

Se finalizó el taller cerca de las 18:15 horas.

Anexo 3: Composición y organización del equipo de trabajo. Horas dedicadas al proyecto. Plan de actividades

Composición y organización del equipo de trabajo

Nombre	Cargo
1. Edwin Niklitschek H.	Dirección general del proyecto; co-autor análisis trófico de salmónidos en el Fiordo (obj. 1 y 2) y análisis estadístico integrado; edición y revisión de informes.
2. Eduardo Aedo M.	Recopilación de información de siembras e incidencia de escapes de salmónidos en el Fiordo Aysén (objetivo 3)
3. Miguel Araya	Lectura y análisis de edades en otolitos
4. Cristian Canales A.	Análisis y resultados objetivo 4 y 5. Preparación de informes
5. Billy Ernst	Co-autor modelación trófica poblacional
6. Sandra Ferrada	Análisis y resultados objetivo 4 y 5. Preparación de informes
7. Ricardo Galleguillos	Responsable Objetivos 4 y 5. Análisis e interpretación de resultados genética.
8. Eduardo Hernández M	Coordinación muestreo biológico y actividades en terreno, administración de base de datos.
9. Claudio Herranz I.	Apoyo análisis estadístico de resultados.
10. Ciro Oyarzún	Responsable análisis de contenido estomacal
11. Pedro Rubilar	Análisis muestreo biológico objetivo 1
12. Pamela Toledo C.	Responsable análisis de edad y crecimiento. Edición y preparación de informes. Revisión base de datos
13. Claudia Barría	Responsable calorimetría predadores y presas.muestreo biológico a bordo, lectura de edad en escamas.

Horas dedicadas por cada miembro del equipo de trabajo al proyecto.

Objetivo	Actividad	Edwin Niklitschek	Eduardo Aedo	Miguel Araya	Claudia Barría	Cristian Canales	Billy Ernst	Sandra Ferrada	Ricardo Galleguillos	Eduardo Hernández	Claudio Herranz	Ciro Oyarzún	Pedro Rubilar	Pamela Toledo
General	Gestión y coordinación del proyecto	64	0			128	0	0	6	0	0	4		52
General	Diseño de muestreo y protocolos de campo	48	0			10	4	10	0	16	0	16		0
General	Elaboración de informes	236	124	32	16	56	64	56	28	48	0	116	32	272
General	Talleres de difusión y discusión	16	8			0	8	0	8	0	0	8		24
General	Administración bases de datos	0	0			0	0	0	0	0	188	0		0
4.1, 4.2	Muestreo biológico	96	0		144	0	0	0	0	880	264	0		536
4.1	Análisis parámetros biológicos	88	0	16		0	100	0	0	0	132	0	148	0
4.1, 4.2	Análisis dieta	0	0			0	0	0	0	0	0	132		0
4.2	Modelación bioenergética	286	0		760	0	0	0	0	0	88	44		0
4.3	Recopilación bibliográfica siembra–escape salmónidos	0	130			0	0	0	36	0	0	0		0
4.4	Revisión bibliográfica y Ev. Económica marcadores	0	0			164	0	144	32	0	0	0		0
4.5	Factibilidad de aplicación de marcadores	44	0			192	0	156	0	0	0	0		0
	Total	878	262	48	920	550	176	366	110	944	672	320	180	884

Plan de Actividades propuesto

1. Puesta en marcha

- Solicitud de un permiso pesca de investigación, una vez adjudicado el proyecto,
- Inspección y acondicionamiento de la embarcación, adquisición de materiales
- Coordinación equipo de trabajo

2. Campañas de muestreo

- Diez campañas de muestreo en un periodo de un año.
- Campañas contemplan traslado de equipamiento y materiales desde y hacia los lugares de muestreo y actividades de muestreo propiamente tal, que se resumen en:
 - determinación de los sitios de muestreo y uso de los artes de pesca
 - recolección y clasificación taxonómica de ejemplares capturados
 - muestreo de talla, peso, y estadio de madurez gonadal de salmónidos,
 - extracción y almacenaje de otolitos, extracción de estómagos
 - extracción de muestras de tejido para los análisis de biología molecular.
 - registro fotográfico, muestreo e identificación de la fauna acompañante.
 - registro fotográfico de las actividades desarrolladas en el crucero
 - muestreo oceanográfico (CTDO)
 - aplicación experimental de la cámara Didson en salmón coho en el mes de mayo y salmón chinook en el mes de enero

3. Análisis de laboratorio

- La lectura de edades de otolitos realizada en el laboratorio de edades del Centro Trapananda de la Universidad Austral de Chile (Coyhaique).
- El estudio de la composición de la dieta y análisis de marcadores moleculares realizadas en la Universidad de Concepción.
- Los análisis correspondiente al objetivo 2 realizados en el Centro Trapananda de la Universidad Austral de Chile (Coyhaique)
- Se envía una contramuestra de otolitos de salmones para su lectura. al laboratorio de la Dra. Jessica Miller (Universidad de Oregon).

4. Base de datos

- La base de datos generada a partir de los datos crudos obtenidos en cada campaña, la que incluye todos los parámetros biológicos tanto del muestreo dirigido como del

muestreo aleatorio (especie, talla, peso, sexo y estado macroscópico de madurez gonadal), datos de la toma de muestras (estómago, otolitos, genética).

- Contiene datos emanados de bitácora que incluyen: posición georeferenciada de zona de muestreo, fecha, hora, arte de pesca utilizada, captura, profundidad, etc.

5. Análisis de datos realizada en cada unidad. Contempla las siguientes actividades:

- Análisis de la composición de tallas y proporción sexual por especie de salmónido en el área y periodo de estudio
- Estimación del peso promedio, IGS e índice de condición por especie de salmónido en el periodo de estudio
- Análisis de la dieta y de las relaciones tróficas de cada especie de salmónido en la zona de estudio
- Modelamiento bioenergético de los salmonídeos de la zona.
- Análisis de edad de las especies salmonídeas
- Análisis de la información existente relacionada con la siembra de salmónidos en el ambiente natural e incidencia de escapes desde centros de cultivo.
- análisis bibliográfico y económico sobre el uso de marcadores genéticos para evaluar el escape de salmónes. Determinación de una metodología apropiada para la diferenciación entre ejemplar de origen silvestre versus uno escapado
- testear la factibilidad de aplicar esta metodología en ejemplares de salmonídeos capturados
- análisis de la aplicación de la cámara DIDSON en salmón coho y salmón chinook.

6. Elaboración de Informes

- Informe de Avance, Pre -informe final, Informe final

7. Realización de talleres

- Talleres de difusión y discusión metodológica
- Taller de discusión y difusión de los resultados del estudio.

De acuerdo a las bases del proyecto, se llevará un registro fotográfico de las principales actividades realizadas, proporcionando al FIP una copia digital de las mismas para los fines de difusión que éste estime conveniente.

